MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE
I. N. R. A.
Centre de Recherches de RENNES
STATION D'AMÉLIORATION DES PLANTES
B.P. 29 - 35650 LE RHEU
Tél. : (99) 00.71.92

# annales de l'amélioration des plantes

Trimestriel

1977

Vol. 27. N° 1

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs
et de l'Institut national de la Recherche agronomique
à l'exception des résumés

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (1), 1-23.

# Quelques aspects de la biologie des ignames *(Dioscorea* sp. p.*)*

# I. — Les ignames et leur culture

L. DEGRAS, R. ARNOLIN, A. POITOUT et C. SUARD

*Station d'Amélioration des Plantes,*
*Centre de Recherches des Antilles et de la Guyane, I.N.R.A.,*
*Duclos, Petit-Bourg (Guadeloupe)*

## Résumé

Depuis une ou deux décades, la connaissance biologique et agronomique des Ignames se développe. Mais elle est peu valorisée en dépit de l'importance économique et alimentaire de leur culture. A partir des recherches poursuivies depuis 1965 par l'I.N.R.A. en Guadeloupe et des données de la littérature, ce texte rappelle la richesse et la complexité botanique du genre *Dioscorea*. Il décrit *D. trifida* à partir de sa reproduction sexuée ou végétative, *D. alata*, *D. cayenensis* s.l., *D. bulbifera* et quelques autres espèces caractéristiques. Leurs traits morphologiques essentiels sont synthétisés en une représentation schématique du genre. Enfin, les conditions culturales traditionnelles et les données d'utilisation des Ignames sont évoquées sans négliger les orientations nouvelles. Ce texte sera suivi d'autres sur la biologie de la croissance et du développement ainsi que sur l'amélioration variétale des principales espèces.

## I. — Introduction

Les Ignames appartiennent à la famille des Dioscoréacées (ordre des Dioscoréales). Cette famille de plantes herbacées ou faiblement lignifiées, aux tiges le plus souvent annuelles, volubiles, comportant des vaisseaux supplémentaires elliptiques et au système souterrain en partie pérenne, est rattachée aux Monocotylédones Liliiflores par EMBERGER (1960). Mais il lui reconnaît de nombreux caractères de Dicotylédones : la disposition initiale des vaisseaux des tiges, la présence de bourgeons sériaux aux aisselles des feuilles, la forme cordée-ovoïde et la nervation secondaire réticulée de celles-ci, l'inflorescence en cyme scorpioïde et des formations anatomiques secondaires. Certains auteurs y ajoutent l'existence de deux cotylédons (LAWTON et LAWTON (1969) et divers auteurs *in* AYENSU (1972)).

Les Menispermacées et les Aristolochiacées (Polycarpiques) sont les Dicotylédones les plus proches des Dioscoréacées.

Le phylum des Dioscoréales se serait différencié des Liliales archaïques (proto-Liliales) au Jurassique (BURKILL, 1960). Il émerge alors, parallèlement aux Liliales asparagoïdes, en proto-Dioscoréacées hermaphrodites : les petits genres *Stenomeris* PLANCH., *Avetra* PERRIER et *Trichopus* GAERTN. (1), dispersés autour de l'Océan Indien, en sont les témoins actuels. La différenciation du genre dioïque *Dioscorea* L. se serait faite simultanément dans l'Ancien et le Nouveau Monde (AYENSU, 1972). Son fruit en capsule triloculaire le distingue, d'une part du genre eurasien *Tamus* L. dont le fruit est une baie, et d'autre part du genre américain *Rajania* L. dont le fruit est une samare. La diversité des espèces (300 à 600 suivant les auteurs) a conduit à proposer une cinquantaine de sections au sein du genre *Dioscorea*. Mais tous les auteurs récents (BURKILL (1960), MATUDA (1954), AYENSU (1972), etc.) jugent nécessaire une révision de la systématique de KNUTH (1924), qui demeure, jusqu'à nouvel ordre, la référence.

Ces sections ont été envisagées à partir du développement du tubercule, du nombre d'étamines, du développement du style, des formes du limbe, du périanthe, de la capsule, des graines et des tubercules ainsi qu'en tenant compte de la dimension de ces organes ou de leur mode d'association (phyllotaxie, inflorescences, etc.). Notons que la distribution géographique de ces sections ferait de la zone intertropicale américaine l'aire de diversification morphologique la plus dense pour les *Dioscorea*. On y trouve aussi une grande diversité d'adaptations écologiques : espèces de zones sèches au nord du Chili (HAUMAN, 1916), espèces d'altitude (au-dessus de 2 000 m) au Mexique (MATUDA, 1954) ou espèces résistantes au froid (— 4 °C) en Argentine, en dehors des nombreuses espèces de forêts amazoniennes humides.

L'utilisation alimentaire des *Dioscorea* paraît remonter aux temps préhistoriques. D'elle dépend aujourd'hui une production agricole relativement considérable : on évalue à quelque 22 millions de tonnes (2) la production mondiale annuelle d'Igname (ENYI, 1970) et elle assurerait environ 12 p. 100 de l'alimentation de base de l'ensemble de la zone tropicale (COURSEY et MARTIN, 1970). Cette production repose sur au moins une vingtaine d'espèces mais seules *D. alata* L., *D. bulbifera* L., *D. esculenta* (LOUR.) BURK., *D. batatas* DECNE (3), originaires d'Asie, *D. cayenensis* L. (incl. *D. rotundata* POIR.) d'Afrique, et *D. trifida* L. d'Amérique, ont débordé leur aire d'origine. On peut en outre mentionner : *D. nummularia* LAM. et *D. pentaphylla* L. répandues de l'Asie méridionale à l'Océanie et que nous avons introduites aux Antilles, *D. hispida* DENNST. en Indo-Malaisie et *D. dumetorum* (KUNTH.) Pax. en Afrique. *D. alata* est depuis le XVe siècle, la plus répandue dans la zone tropicale. Seule *D. batatas* a une localisation subtropicale et tempérée (Chine, Japon, France (Bassin de la Loire, CUSSON et COLLADANT 1958)).

(1) Pour ne pas alourdir le texte, les noms botaniques ne sont suivis de celui de leurs auteurs qu'à leur première mention, les suivantes se référant à la même source.

(2) Cela pourrait paraître peu en comparaison des quelque 300 millions de tonnes de la production mondiale de pomme de terre. N'oublions pas la prise en main de celle-ci par l'économie européenne (haute technicité, plus de 50 p. 100 des surfaces mondiales, utilisations animales et industrielles, exportation vers le tiers-monde, etc.), et la faible consommation par habitant des zones tropicales.

(3) Bien que COURSEY (1967) le dise illégitime en regard de *D. opposita* THUNB., nous utiliserons ce binôme d'utilisation assez générale, à l'exemple de AYENSU (1972) où l'on trouvera la dernière revue critique de la systématique des *Dioscorea*.

En dépit de cette vaste dispersion, de cette richesse spécifique et de sa portée économique, ce n'est que depuis une vingtaine d'années que la connaissance biologique de l'Igname s'est significativement développée.

A Trinidad, les caractères variétaux et agronomiques de sa croissance, la physiologie du repos végétatif, les atteintes virales, la mécanisation de la culture et la transformation technologique de la récolte ont été étudiées (CAMPBELL *et al.*, 1962; CAMPBELL et GOODING, 1962; CHAPMAN, 1965; HAYNES, SPENCE et WALTER, 1967; HENRY, 1967; FERGUSON, HAYNES et SPRINGER, 1969; FERGUSON et HAYNES, 1970; FERGUSON, 1972, 1974; MANTELL *et al.*, 1974; MANTELL *et al.*, 1974, 1975; MOHAMED et MANTELL, 1975).

A Puerto-Rico, une attention particulière aux espèces à stéroïdes (*D. composita* HEMSL., *D. floribunda* MART. et GAL., *D. spiculiflora* HEMSL.) a conduit à des acquisitions notables en morphogenèse, biologie et génétique des *Dioscorea* (MARTIN et ORTIZ, 1963; MARTIN, 1966; GREGORY, 1968; MARTIN, 1970), et tout dernièrement l'étude d'une vaste collection aboutit à une série de monographies d'espèces alimentaires (MARTIN, 1974 *a*, 1974 *b*, MARTIN et DEGRAS, 1976).

Au Japon, la physiologie de la croissance et de la dormance de *D. batatas*, sa morphogenèse, sont explorées (SAWADA, 1952; HASHIMOTO, HASEGAWA et KAWARADA, 1972; HASEGAWA et HASHIMOTO, 1974).

Récemment, des études agronomiques et de l'utilisation de la reproduction sexuée ont été amorcées au Nigéria (HAHN, HOWLAND et SINGH, 1973; UMANAH, 1973; SADIK et OKEREKE, 1975 *a*, 1975 *b*).

Ainsi des données importantes sont venues enrichir les approches fondamentales de BURKILL (résumées dans son testament scientifique de 1960), et certaines étoffent la monographie contemporaine, celle de COURSEY (1967), qui est anglaise.

Si des travaux français de haut niveau comme ceux de QUEVA (1897) et de MIEGE (1950, 1952, 1957, 1958) ont marqué la connaissance de l'Igname, encore que la thèse de MIÈGE (1952) n'ait pas été publiée, les recherches et les publications françaises paraissent aujourd'hui sans commune mesure avec le rôle agricole et alimentaire de l'Igname dans les régions tropicales francophones d'Océanie, d'Afrique et d'Amérique (1).

Les résultats d'un programme de recherche entrepris en Guadeloupe depuis 1964 (DEGRAS, 1969, 1970; DEGRAS *et al.*, 1971; DEGRAS, ARNOLIN, POITOUT, 1972; ARNOLIN, POITOUT, DEGRAS, 1973; DEGRAS, ARNOLIN, POITOUT, 1973; MATHURIN, DEGRAS, 1974; DEGRAS, MATHURIN, 1975), les données étrangères évoquées et des observations effectuées de 1956 à 1958 en Côte d'Ivoire (L. DEGRAS, rapports internes (1956, 1957) et données non publiées), fondent la présente publication. Nous espérons qu'elle rectifiera ou précisera les vues sommaires trop courantes dans les milieux agronomiques français et soulignera l'intérêt scientifique et pratique de l'étude des Ignames.

*D. trifida*, Igname alimentaire, dont tous les stades nous sont connus, (HENRY, 1967 et travaux personnels) sera notre espèce de référence. Puis les caractères particuliers aux autres espèces importantes ou typiques seront pris en compte pour une représentation morphologique synthétique des Ignames.

---

(1) On peut heureusement consulter depuis peu MESSIAEN (1974) qui utilise les travaux du Centre I.N.R.A. des Antilles et de la Guyane.

Ayant fait connaissance avec la plante, nous concluerons cette première partie par un exposé rapide de son mode de culture, d'utilisation, et de leurs problèmes, avant d'aborder dans les parties suivantes les aspects de la reproduction végétative et de la reproduction sexuée des Ignames qui conditionnent son amélioration génétique.

## II. — Caractéristiques générales de la plante

### A. — *Description des principaux types d'Igname*

1. — *L'Igname Cousse-couche* (Dioscorea trifida *L.*) [1]

*De la graine au tubercule-mère d'un clone*

La graine, ailée, ne pèse qu'un centigramme environ. Du jour où le fruit la libère à celui où une mise en germination donne des résultats, il s'écoule en général un mois; mais cette période de « dormance » achevée, il s'écoule un mois pour le premier semis, après imbibition, avant la sortie effective de la plantule. Pour les semis suivants la sortie se fera entre 20 et 40 jours après l'imbibition.

Une première série d'axes caractérise la plantule. Ils se succèdent au niveau du collet en ordre de vigueur croissant et en écartant de fines écailles membraneuses. Chacun, après un premier entre-nœud égal ou supérieur à la longueur de la première feuille (pétiole compris), donne trois ou quatre feuilles sur des entre-nœuds courts. Leurs aisselles peuvent émettre chacune une ramification à entre-nœud court également. L'ensemble de la plantule a alors un aspect buissonnant, avec des « rosettes » perchées au dessus de l'entre-nœud initial de chaque axe basal. Toutes les feuilles sont cordées-ovées (fig. 1).

Cette série d'axes (3 à 6) s'achève, sans grande transition, avec le développement d'entre-nœuds longs et volubiles par les plus jeunes d'entre eux (le premier axe émis ne dépasse pas le stade « rosette »). Les étages volubiles donnent des feuilles lobées devenant progressivement palmatilobées (3 à 5 lobes). Les tiges s'enroulent [2] dans le sens des aiguilles d'une montre et peuvent atteindre plusieurs mètres. Elles sont flanquées de 2 à 4 ailes. Les feuilles sont alternes, rarement opposées.

Entre-temps, aux trois racines sorties du collet se sont ajoutées plusieurs autres et un nombre variable d'ébauches de cordons tubérifères. Celles-ci sont des

(1) Autres noms vernaculaires : Aja (Andes centrales), Mapuey (Andes septentrionales et zones amazoniennes), Yampi, Igname Indien (zone antillo-guyanaise). Une monographie de l'espèce est en préparation (Martin et Degras, 1976).

(2) Nous espérons que l'expression « sens des aiguilles d'une montre » ne présentera pas les ambiguïtés de « dextrorse » et « sinistrorse ». Pour nombre d'auteurs anglais (Burkill, 1960; Coursey, 1967, Henry, 1967) une tige « s'enroule à gauche » et est « sinistrorse » quand elle s'élève de la droite vers la gauche entre son support et l'observateur; elle s'enroule alors, vue en plan, dans le sens des aiguilles d'une montre autour de l'axe. Mais des auteurs français (Guilliermond et Mangenot, 1946) appellent « sinistrorse » la tige qui s'enroule dans le sens inverse des aiguilles d'une montre. L'importance de la question vient du fait que chez les *Dioscorea* le sens de l'enroulement est une caractéristique d'espèces et non de genre comme dans le reste du règne végétal.

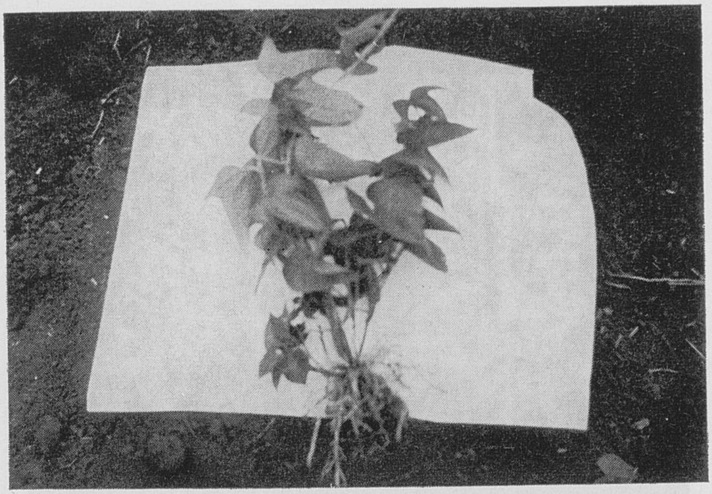


FIG. 1. — *Jeune plante de Cousse-couche* (D. trifida) *issue de graines.* On distingue à sa base, vers la gauche, la « rosette perchée » de feuilles cordiformes sur la tige initiale à croissance limitée et non volubile.

renflements du collet, de diamètre (4 mm ou plus) supérieur à celui des racines (0,5-1 mm) ou des tiges (1-3 mm à ce stade), qui écartent ou déchirent les membranes écailleuses sous les tiges. Ils donnent des cordons cylindriques, rigides, obliques, qui se dilatent éventuellement en ampoule pour donner les tubercules à une distance du collet dépendant de la variété (2 à 20 cm). Le nombre de tubercules peut aller de quelques-uns à une dizaine chez la plante issue de semis. La tubérisation de certaines plantes peut se limiter à l'épaississement uniforme (de l'ordre de 1 cm) des cordons (fig. 2).

Sur une section anatomique du tubercule, on arrive difficilement à individualiser un épiderme. L'écorce primaire est à cellules irrégulières. Une écorce secondaire subérisée, de 6 à 12 assises cellulaires, entoure la masse de parenchyme, à structure radiale à la périphérie, où les vaisseaux à structure caulinaire sont dispersés.

Vers le cinquième mois de végétation, pour un semis de mai, soit vers octobre, des boutons floraux apparaissent aux aisselles des feuilles, surtout aux aisselles des jeunes feuilles, dont les limbes seront souvent réduits et peu lobés. Toutes les plantes ne fleurissent pas. Il y a toujours plus de plantes à fleurs mâles qu'à fleurs femelles. Les inflorescences mâles sont en grappes d'épis ou en cymes d'épis (fig. 3). Les fleurs, de 4-7 mm de diamètre, ont 6 pétales vert jaunâtre bien étalés à l'anthèse. Un rudiment d'ovaire existe, entouré par six étamines. Les inflorescences femelles sont des épis solitaires (fig. 3) ou géminés (disposés par 2). Des staminodes sont visibles au sommet d'un ovaire long de 1 à 2 cm, autour du pistil à 3 stigmates. Après la fécondation, les loges de l'ovaire se dilatent en 3 lobes membraneux semi-elliptiques dans 3 plans à 120° et le pédoncule s'incurve au point de redresser le fruit de 180° sur les branches pendantes (géotropisme négatif). Sa maturation est très lente et s'achève bien après la chute des feuilles qui survient entre le septième

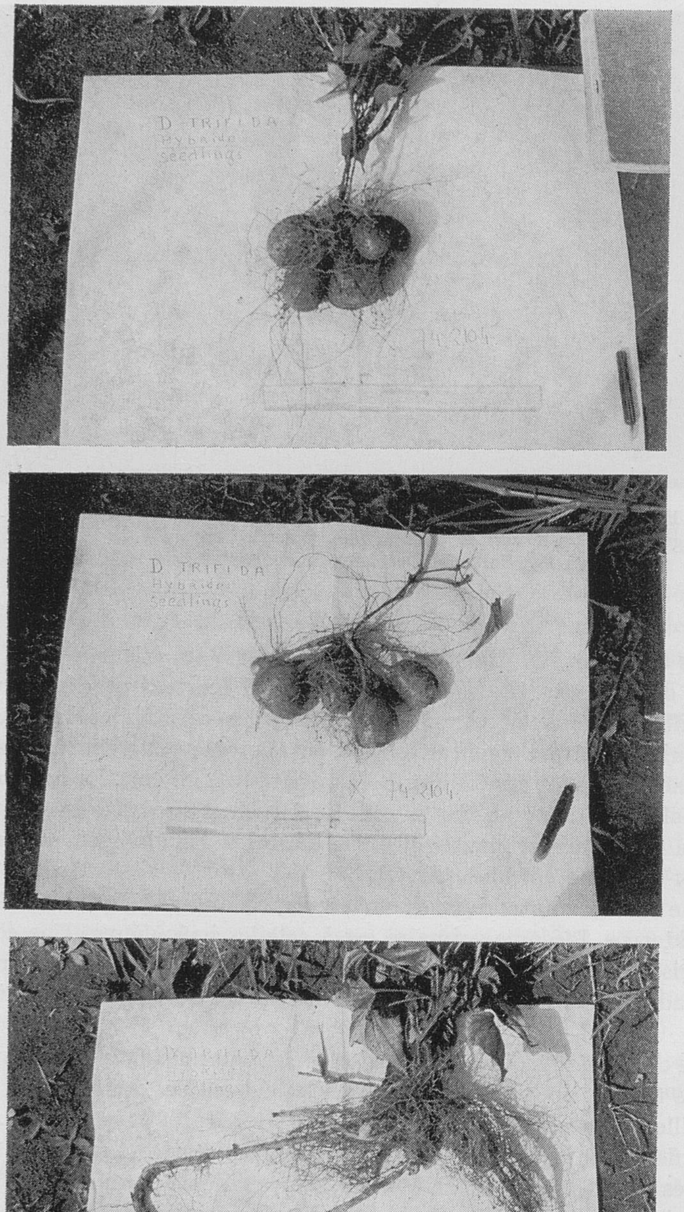



FIG. 2. — *Appareil souterrain de plantes de Cousse-couche* (D. trifida) *issues de graines d'une même mère* (pollinisation non contrôlée).

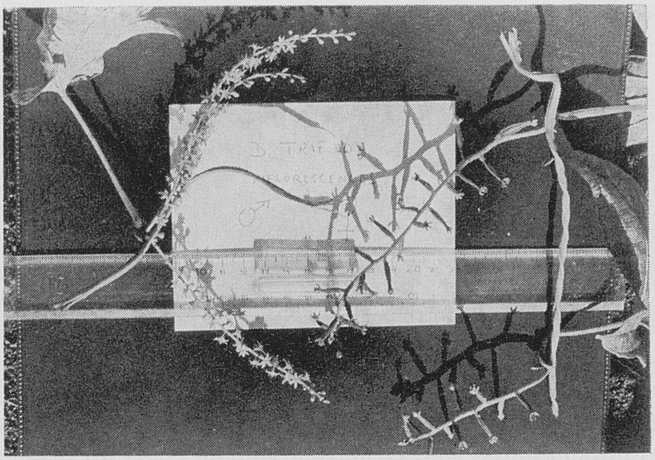


FIG. 3. — *Inflorescences du clone mâle* « 71.2.58 » (à gauche) *et du clone femelle* « 74.2.104 » (à droite) *de Cousse-couche* (D. trifida)

et le dixième mois de végétation. Chaque lobe contient 2 graines à aile bilatérale.

A compter du dessèchement de l'essentiel de l'appareil aérien, la dormance du tubercule paraît brève, de l'ordre d'une semaine à un mois.

*La descendance clonale; différences avec la plante issue de graine*

Le sommet de l'appareil souterrain présente des bourgeons dormants inhibés au cours de la précédente poussée des tiges. A la levée de dormance une ou plusieurs aisselles des écailles de ces bourgeons vont fonctionner. Cette zone de bourgeons rapprochés constitue un rhizome très contracté analogue à la « griffe » de l'asperge, à ceci près qu'elle a émis, en plus des racines, des cordons tubérifères. La reproduction végétative se fait soit à partir de la « griffe » d'origine des cordons tubérifères, soit à partir d'un fragment de ceux-ci, soit plus couramment, à partir du renflement en ampoule (tubercule usuel) qui termine le cordon. Sur les cordons et les tubercules on repère, dès leur récolte, des protubérances de 2 à 8 mm. La germination des nouvelles tiges se fera par l'évolution de ces protubérances ou des bourgeons écailleux dormants (fig. 4). Elle commence par un gonflement hémisphérique puis sphéroïde, de la protubérance ou du bourgeon, qui constitue un nodule (« prétubercule ») relié par un « isthme » au tubercule-mère. Son sommet se différencie en écailles épaissies, puis en tige de 1 à 2 cm de section, non compris les ailes (plus de 4 en général). Les premières ébauches foliaires évoluent en limbes triangulaires à pétiole court, les suivantes en feuilles normales atteignent 15-20 cm de large. La tige au bout de 10 à 50 cm, amorce son mouvement giratoire et le nombre d'ailes tend à se stabiliser autour de 4. Plusieurs tiges peuvent sortir d'un bourgeon. Mais en général, plusieurs bourgeons fonctionnent à des distances et des intervalles de temps variables le long du tubercule. Les plus nombreux et les plus vigoureux partent en général de la zone la plus âgée. Une plante peut avoir émis 5 à 12 tiges initiales en fin de croissance. Presqu'en même temps que les tiges, de nombreuses racines épaisses (3 à 6 cm de diamètre) et rigides sortent à travers

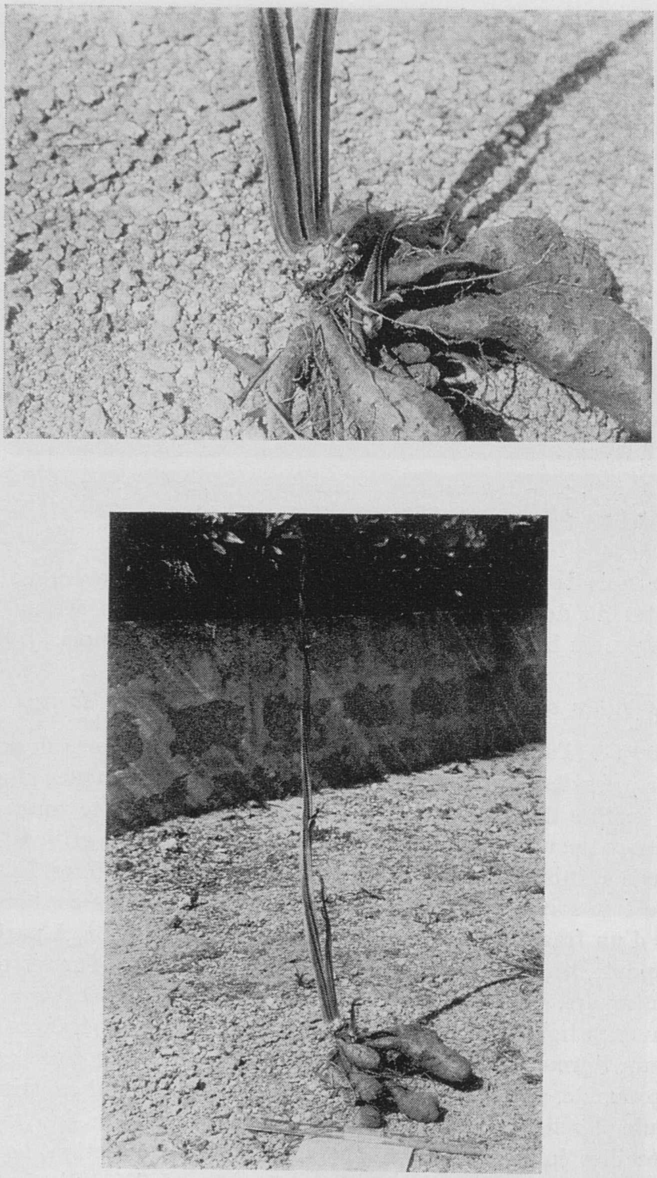


FIG. 4. — *Germination de l'appareil souterrain d'une plante de Cousse-couche* (D. trifida) *issue de graines.* En haut, vue rapprochée des prétubercules et des bases des tiges nouvelles.

les écailles basales du pré-tubercule. Un ou deux mois après, les premiers cordons tubérifères percent en dessous de la zone radiculaire. Ils atteignent d'emblée 8 à 10 mm de diamètre et s'épaissiront assez brusquement vers le cinquième mois à quelques centimètres ou quelques décimètres de leur origine.

A travers cette description, on relève des différences qualitatives et quantitatives avec la plante issue de semis :

Différences qualitatives : l'hypertrophie du nœud du cotylédon *accompagne* l'émission des premiers axes tandis que la formation du prétubercule *précède* la différenciation des organes de la plante clonée : les feuilles initiales sont *ovées-cordées* chez la plantule et *triangulaires-hastées* chez les clones; il n'y a *pas de stade en rosette* chez le clone.

Les différences quantitatives sont l'accroissement du nombre et des dimensions des organes et l'allongement du cycle de végétation. Une plante d'un clone moyen peut ainsi grimper à plus de 5 m de haut, avoir des centaines de fleurs et de fruits avec, à son maximum de développement, un poids total de 10 à 50 kg, dont 5 à 15 kg d'une récolte commercialisable de plusieurs dizaines de tubercules, d'où un rendement de 15 à 55 t/ha.

Ces tubercules, à écorce liégeuse, relativement fine, à chair blanche ou violacée, plus rarement brune ou lie-de-vin, sont les plus estimés parmi les tubercules d'Igname aux Antilles. Leur valeur nutritive est un peu supérieure à celle des tubercules de la Pomme de terre dont ils admettent tous les modes de préparation usuels.

2. — *La « Grande Igname »* (Dioscorea alata *L.*)

Cette espèce, la seule vraiment commune dans toutes les régions tropicales se distingue de la Cousse-couche, très globalement, par une plus grande vigueur et une plus grande souplesse d'adaptation.

Dans la morphologie d'une plante clonale adulte, on relèvera les traits suivants: la tige à section quadrangulaire ailée s'enroulant dans le sens contraire des aiguilles d'une montre ; la phyllotaxie évoluant rapidement d'alterne à opposée décussée avec des verticilles localisés; les feuilles entières, cordiformes, à sinus variable au niveau du pétiole, et prolongées par un acumen glanduleux; les inflorescences

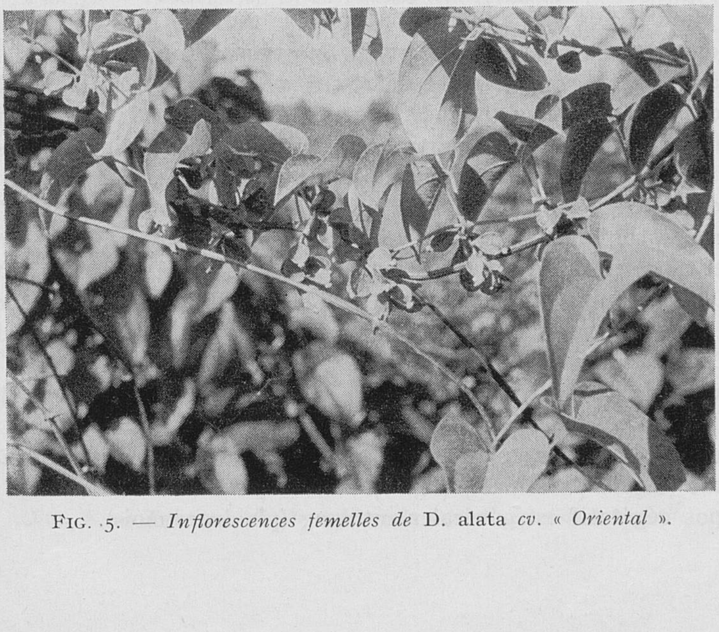


FIG. 5. — *Inflorescences femelles de* D. alata *cv. « Oriental ».*

en grappe, aux fleurs globuleuses (fig. 5); dans la partie souterraine, un seul tubercule, en général, directement associé au prétubercule. Chez quelques variétés la tubérisation progressive détermine un tronçon conique proximal mais il n'y a jamais de cordon cylindrique et la plupart des variétés ont des tubercules ovoïdes, fusiformes ou cylindroïdes dont le diamètre dépasse 6 cm et atteint parfois 20 cm. Leur longueur va de 20 cm à 1 m, ou plus, en culture forcée. Des digitations peuvent conduire à des formes en polype ou en éventail. Chez certaines variétés et pour certaines plantes, on récolte 2 à 3 tubercules. Le poids d'un tubercule est généralement entre 500 g et 10 kg. On en a récolté souvent de plusieurs dizaines de kilos. Le rendement en culture commerciale atteint aisément 30 à 40 t/ha.

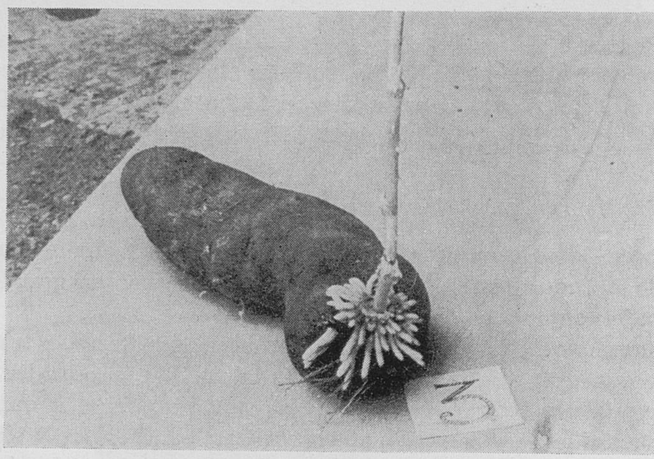


FIG. 6. — *Germination de tubercule de* D. alata.

Bien que BURKILL (1960) en signale, la germination de graines de *D. alata* dont un grand nombre de variétés ne fleurissent pas, semble exceptionnelle. Elle n'a pas été décrite, à notre connaissance. La reproduction se fait en général à partir d'un fragment de tubercule ou à partir de petits tubercules entiers formés à côté du tubercule principal. Certaines variétés donnent des bulbilles, formations tubérisées aux aisselles foliaires, surtout celles de ramifications retombantes, vers l'époque de la floraison. Ces bulbilles peuvent individuellement peser plusieurs centaines de grammes et représenter au total 10 à 15 p. 100 en poids de la tubérisation de ces variétés (DEGRAS, ARNOLIN, POITOUT, 1972). Ces bulbilles sont à l'origine de la dispersion et du maintien subspontané dans les régions humides antillaises de la variété « Tahiti » (ou « En bas bon ») (fig. 9).

Les tubercules souterrains et aériens ont des variations de couleur de la chair analogues à celles de *D. trifida*. L'écorce liégeuse est plus épaisse. Les bourgeons ou leurs ébauches sont davantage centrés autour de l'extrémité la plus âgée du tubercule (région proximale) (fig. 6).

Le repos végétatif est généralement long (plusieurs mois).

3. — *Le groupe des Ignames « Jaune » et « de Guinée »* (Dioscorea cayenensis *LAM. S.L.*)

Cette espèce se différencie de la précédente par sa tige cylindrique, parfois fortement épineuse à la base, jamais ailée, des feuilles plus rigides, cordiformes comme celles de *D. alata*, mais dépassant moins souvent 10-15 cm de diamètre. On observe parfois aussi des racines épineuses près de la surface du sol. Les tubercules, en général solitaires (fig. 7) sont moins vigoureux que ceux de *D. alata*. Les rendements sont souvent de l'ordre de 10-12 t, parfois de l'ordre de 25 t/ha en tubercule commercialisable. Ils sont fonction d'une pratique culturale, dominante en Afrique, exclusive aux Antilles : la récolte se fait en deux temps. Une première récolte a lieu vers le cinquième mois par une section sous le prétubercule en ména-

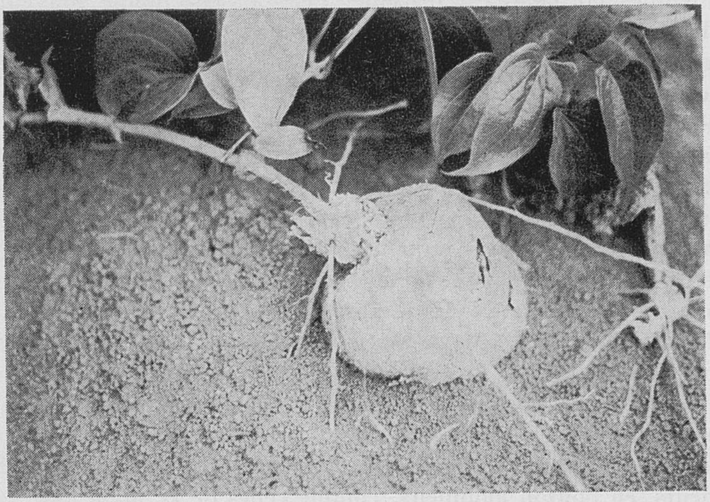


FIG. 7. — *Tubercule de* D. cayenensis *ssp.* rotundata (*1re récolte*).

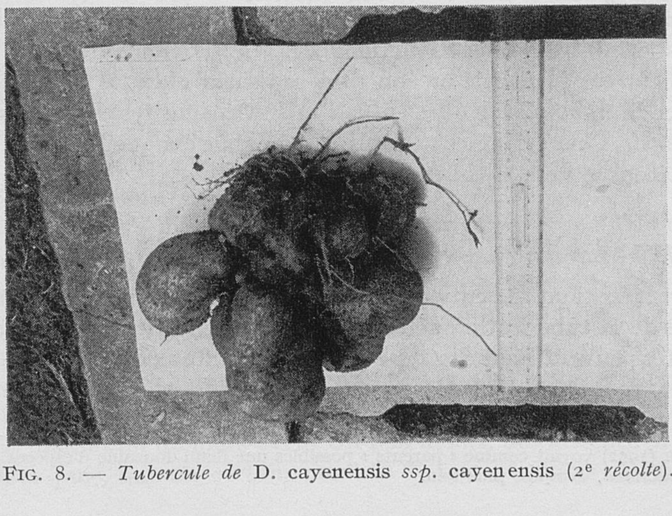


FIG. 8. — *Tubercule de* D. cayenensis *ssp.* cayenensis (*2e récolte*).

geant le système radiculaire. Un léger buttage suit et, deux à trois mois après, au moment de la chute des feuilles, on récolte une masse de régénération, digitée en dessous, bourgeonnante et lignifiée au-dessus. C'est le tubercule de semence usuel. A la plantation, il sera sectionné verticalement en 2 à 4 semenceaux de 200 à 400 g ou beaucoup plus (Jamaïque). Le tubercule de première récolte, fragmenté, peut également servir de semence. Mais son altération est généralement rapide. Le repos végétatif du tubercule de semence est d'un à quelques mois suivant les variétés.

A la germination du tubercule, au-dessus d'un fort prétubercule, la tige initiale, fréquemment unique, porte sur plusieurs décimètres rigides (non volubiles) des feuilles réduites : elles ont un très long acumen glanduleux, un limbe épais, coriace directement inséré sur la tige; elles n'ont pas de pétiole. La transition avec des feuilles normales est brusque. Leur aisselle donne souvent des ramifications horizontales également non volubiles, sur une certaine longueur, garnies de feuilles réduites aux premiers nœuds. L'enroulement de la tige se fait en sens inverse des aiguilles d'une montre.

La coloration (blanche) de la chair du tubercule a basé la distinction en *D. cayenensis* LAM. (jaune) et *D. rotundata* POIR. (blanche) de la plupart des auteurs. CHEVALIER (1936) et MIÉGE (1952) l'ont justement rejetée. Des intermédiaires existent, sans oublier des colorations pourpres du tubercule, au sein d'une espèce très probablement hybridogène ou polyphylétique [1] (MIÈGE, 1952). MIÈGE (1968) se borne à distinguer une sous-espèce *D. cayenensis* LAM. subsp. *cayenensis* à deux récoltes par an et courte période de dormance, et une sous-espèce *D. cayenensis* subsp. *rotundata* (POIR.) J. MIÈGE, à une récolte par an et longue période de dormance. Aux Antilles, elles offrent deux récoltes l'une et l'autre. Plus récemment AYENSU (1970) a requis la séparation de deux espèces sur les différences de nombre et de disposition des faisceaux vasculaires dans la tige entre formes à chair jaune et blanche. Mais il n'a pas indiqué ce qu'il en est des formes intermédiaires.

Les fleurs, en bouton globuleux, comme celles de *D. alata*, ont un périanthe assez rigide, à anthèse discrète, et donnent des fruits fertiles. Leur germination est analogue à celle de *D. trifida* (SADIK et OKEREKE, 1975 *b*) mais il n'y a, sauf cas très rare, qu'un tubercule par plantule. Il est souvent hirsute par suite de la présence de radicelles brièvement fonctionnelles. Le tubercule de clone l'est parfois, mais seulement sur sa moitié ou son tiers supérieur chez les variétés cultivées.

L'espèce *D. nummularia* offre en Asie et en Océanie des caractères très proches de *D. cayenensis*. Chez certaines variétés, le tubercule évoque *D. trifida* par un rétrécissement accentué vers le collet.

4. — *L'Igname à bulbille* (Dioscorea bulbifera *L.*)

La caractéristique essentielle de cette espèce est la prédominance, sinon l'exclusivité de la tubérisation aérienne sur la tubérisation souterraine. Certaines de ses variétés peuvent conduire à des rendements totaux de 25 t/ha dont les tubercules aériens ne représentent pas 1 p. 100 (MARTIN, 1974 *b*). Mais l'inverse est de

(1) MIEGE (1952) voyait comme « parents » possibles une demi-douzaine d'espèces ouest-africaines, dont *D. mangenotiana*, évoquée plus loin.

beaucoup le plus fréquent et en général le rendement en bulbilles fait 30 à 70 p. 100 de la récolte.

Le volume et la forme de ces bulbilles sont des caractères variétaux (fig. 9).

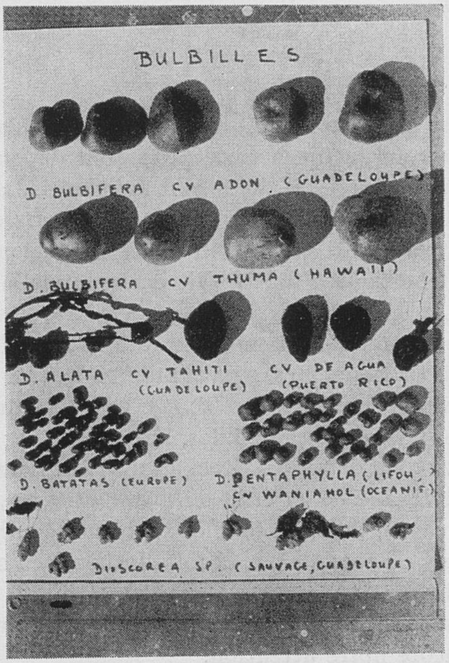



FIG. 9. — *Bulbilles de diverses espèces d'Igname.*
Entre parenthèses : provenance directe des clones. L'espèce sauvage a été identifiée par J. FOURNET (I.N.R.A., Guadeloupe) comme *D. pilosiuscula.*

Le principal facteur de modification morphologique est le nombre de bourgeons axillaires qui constituent chaque bulbille. S'il n'y en a qu'un, la bulbille est ovoïde ou réniforme avec un ensellement au niveau du pétiole. Quand le nombre de bourgeons constitutifs s'accroît, elle est polyédrique, souvent triquètre ou digitée.

La bulbille présente des cercles de lenticelles et d'ébauches racinaires concentriques par rapport à ses bourgeons. En climat très humide, les racines peuvent poindre sur la bulbille en place avant l'entrée en repos végétatif. Celui-ci est de l'ordre de quelques mois.

La bulbille, entière ou fragmentée, est le principal sinon l'unique matériel de plantation. Les fragments dépourvus de bourgeons préformés n'en produisent pas moins rapidement un prétubercule d'où partent la tige, à feuilles cordiformes et des racines épaisses (MIÈGE, 1952). La forme des feuilles et la phyllotaxie, alterne, ne changent guère chez la plante adulte. La tige, cylindrique (1-8 mm d'épaisseur), s'enroule dans le sens des aiguilles d'une montre et peut grimper à une dizaine de mètres. La floraison, qui n'est pas constante dans l'espèce, survient trois à quatre mois après la plantation de mars-avril. Un peu avant, des aisselles produisent des bulbilles seules puis, sur un certain nombre d'étages foliaires, les bulbilles sont

accompagnées d'épis en cymes de racèmes de 5 à 20 cm de long; enfin les inflorescences se retrouvent seules à leur tour vers l'extrémité de la tige.

La germination de graines a été observée. La zone tubérifère unique est bien distincte de celle des racines. Les feuilles initiales sont cordées comme celles de la plante clonée (MARTIN, 1974 *b*).

5. — *Autres espèces remarquables*

Parmi les espèces alimentaires, *D. esculenta* se singularise par sa protection épineuse. Si les racines de quelques variétés en sont dépourvues, toutes les tiges et surtout leur jonction avec les pétioles sont épineuses. La tubérisation se fait à l'extrémité de cordons comme chez *D. trifida*, mais les tubercules sont plus souvent cylindroïdes à peau très mince et lisse en dépit de quelques petites racines. La floraison de plantes femelles est tout à fait exceptionnelle (MARTIN, 1974 *a*).

*D. dumetorum* d'Afrique et *D. hispida* espèce asiatique affine, ont des feuilles composées-palmées à 3-5 folioles et une pilosité générale de l'appareil aérien. Le tubercule, parfois couvert de racines, souvent digité, à chair blanche ou jaune n'est consommé qu'après une élimination des toxines par un à deux jours de trempage. Il peut atteindre plusieurs dizaines de kilos. En réalité, ces espèces étaient encore en voie de domestication au début du siècle, et un petit nombre de variétés à toxicité réduite avait été dégagé. Il en était de même de *D. pentaphylla*, de domestication un peu plus avancé, dont les feuilles sont aussi composées-palmées mais à 5-7 folioles. Toutes ces espèces sont à la fois florifères et bulbifères, les bulbilles demeurant petites (fig. 9).

Deux séries d'espèces, bien que d'utilisation alimentaire très occasionnelle ou nulle, méritent encore notre attention.

*D. mangenotiana* MIÈGE d'Afrique est un exemple d'espèces pérennes par leur tubercule (MIÈGE, 1952, 1958). Celui-ci est ligneux et crevassé au niveau du sol et, sous cette carapace, demeure un massif parenchymeux vivace, irrégulier, qui émet chaque année des digitations charnues. Il peut atteindre des dizaines de kilos sous un appareil aérien annuel, mais grimpant à plus de 30 m en forêt ivoirienne.

*D. minutiflora* ENGL. sera le type des espèces ouest-africaines pérennes par l'ensemble de l'appareil végétatif (MIÈGE, 1950, 1952). Celui-ci occupe le terrain par des stolons qui développent aux nœuds des massifs cellulaires tubérisés, d'où naissent tiges et tubercules verticaux. En Amérique du Sud, *D. multiflora*, également vivace (HAUMAN, 1916) tubérise en axes souterrains sub-horizontaux et fasciculés qui ne dépassent guère 1 à 2 cm de diamètre sur 50-60 cm de longueur, et ARCHIBALD (1967) a souligné dans la province du Cap (Afrique du Sud) la prédominance des espèces pérennes.

## B. — *Schéma synthétique de la structure morphologique des Ignames*

La figure 10 associe, sur une plante théorique, les traits morphologiques essentiels rencontrés chez les espèces décrites. Nous commenterons brièvement quelques éléments structuraux.

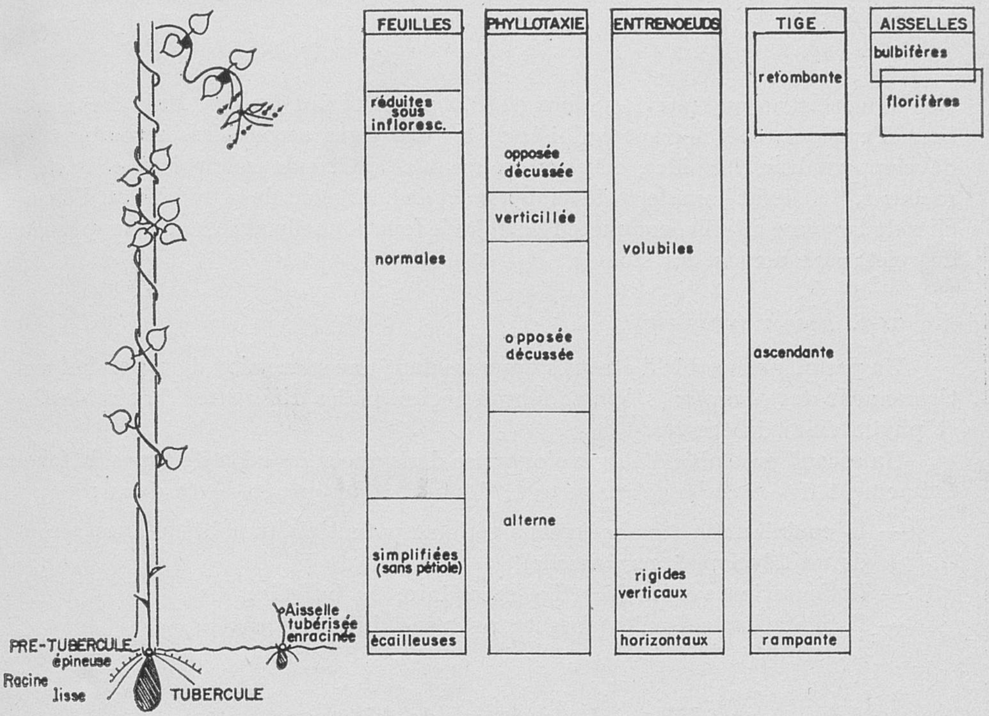



FIG. 10. — *Schéma de la structure morphologique des ignames.* (Voir le texte.)

## 1. — *Appareil souterrain*

### 1. 1. *Prétubercule*

Rappelons ses principales caractéristiques : forme sphéroïde, entassement de nœuds d'écailles épaissies à la base; vascularisation caulinaire dense dans un parenchyme jeune; émission de une ou plusieurs tiges et, à travers ou entre les écailles de racines grosses et longues et des ébauches de tubercule; croissance limitée à la période de germination. Il demeure fonctionnel tout au long de la saison de croissance, capable de donner une nouvelle tige, en cas de suppression accidentelle, à partir de bourgeons dormants aux aisselles de ses écailles.

### 1. 2. *Racine*

On n'observe pas de racines lisses au-dessus de racines épineuses, qui sont d'ailleurs peu communes chez les variétés cultivées.

### 1. 3. *Tubercule*

Le volume et la forme du tubercule sont largement spécifiques et variétaux mais nettement affectés par le milieu de croissance (ARCHIBALD, 1967; GUMBS et FERGUSON, 1975).

2. — *Appareil aérien*

2. 1. *Tige stolon*

Il ne se structure pas de stolons chez la majorité des espèces. Mais chez nombres d'epèces, généralement bulbifères, où des tiges secondaires retombent et développent leurs bulbilles, celles-ci croissent en partie dans le sol où elles s'enracinent. En climat humide, le développement de bourgeons de la bulbille ou d'ébauches de la même aisselle, complète l'homologie fonctionnelle avec le développement de rejets aux nœuds des stolons.

2. 2. *Étages supérieurs*

Un premier ensemble d'étages s'organise dans une succession de types de fonctionnement des *ébauches foliaires :* morphologies finales différentes (hétéroblastie) et phyllotaxies différentes.

Un second ensemble d'étages s'organise dans une succession de types de fonctionnement des *aisselles foliaires,* avec des variations progressives dans :

— la contribution des bourgeons sériaux potentiels (nombre d'axes secondaires développés par aisselle),
— l'orientation végétative (tige secondaire ou bulbille),
— l'orientation sexuelle (absence /présence d'inflorescence).

## III. — La culture de l'Igname

La culture de l'Igname est encore l'une des plus typiques du système de production agricole tropicale généralement désigné par « production vivrière ». Elle participe des principales caractéristiques de celle-ci :

— déplacement de la culture suivant les défrichements forestiers ou la reprise de longues jachères non cultivées,
— petitesse des plantations,
— mélanges fréquents avec des cultivars, des espèces ou des genres appartenant à des types biologiques très différents,
— vocation alimentaire avec échelonnement de la production,
— autoconsommation, échange ou vente de la production sur une aire restreinte.

Nous commenterons rapidement la participation de l'Igname à ces caractéristiques en indiquant les situations extérieures au système et les évolutions qui se dessinent.

### A. — *Déplacement de la culture*

A l'intérieur de son aire, là où le système de culture vivrière n'a pas trop subi les effets de l'intensification agricole « industrielle », l'Igname est l'une des productions initiales des champs itinérants. Elle bénéficie ainsi du maximum de matières organique et, par le brûlage des ligneux et l'écobuage, d'importants apports miné-

raux, tandis que certains éléments du taillis lui sont conservés comme tuteur plus ou moins vivants.

Il en a été ainsi au début de la mise en exploitation des Antilles et une fraction des surfaces y participe encore de ce système. Mais, souvent, intégrée à des jardins enclavés dans les zones à Canne ou à Banane, contribuant à la mise en valeur de lots de réforme foncière et même, plus rarement et sciemment reconduite sur place, dans des zones marginales, la culture actuelle de l'Igname fait appel à une certaine fertilisation minérale. La Canne ou la Banane voisine inspire des dosages approximatifs et parfois, de la Canne encore elle bénéficiera en zone sèche d'un paillage à sa plantation. C'est aussi en culture intercalaire de nouvelles plantations de Canne que les premières grandes cultures d'Igname ont pris naissance à la Barbade.

### B. — *Mélange de Biotypes*

Le nombre de cultivars d'Igname cultivés aux Antilles est de l'ordre de la cinquantaine (sous un nombre plus élevé de désignations variétales). Chaque île connaît au minimum une dizaine de cultivars se répartissant en *D. alata, D. cayenensis, D. trifida, D. bulbifera ;* et *D. nummularia* vient d'être introduit aux Antilles françaises.

Des variétés, de précocités échelonnées, d'une ou de plusieurs espèces, pourront figurer non seulement dans un même champ, mais dans la même butte et sur le même tuteur.

Entre les buttes ou les billons, on trouvera souvent d'autres plantes (Aracées : *Colocasia esculenta* (L.) SCHOTT., *Xanthosoma sagittifolia* SCHOTT, Euphorbiacées (Manioc), Maïs, Malvacées (Gombo) etc...)

Le premier type d'association est fréquent en Guadeloupe (fig. 11).

Ces usages rendent très aléatoires les estimations des surfaces consacrées



FIG. 11. — *Culture associée d'Igname* (D. cayenensis), *tuteurée, et de Malanga* (Xanthosoma sagittifolia), *au Lamentin* (*Guadeloupe*).

à l'Igname et si elles contribuent à la sécurité alimentaire des exploitations, elles rendent malaisées l'application des techniques élaborées en culture monovariétale ou tout au moins monotypique.

Il se dessine toutefois une tendance à la limitation des associations, et les cultures monospécifiques et même univariétales s'accroissent (fig. 12).

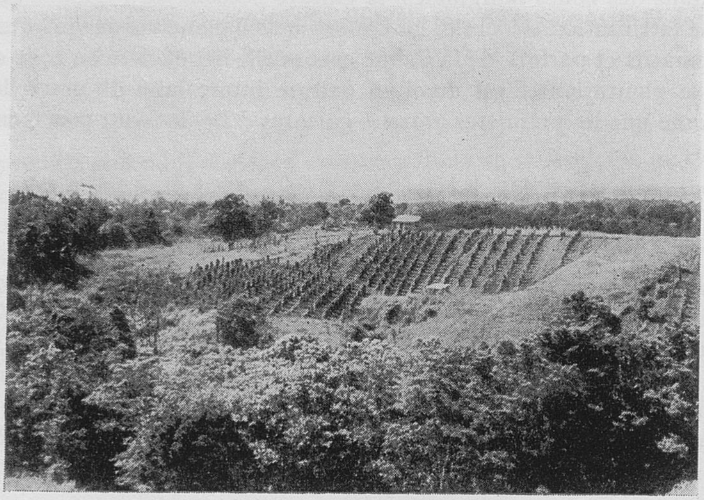


FIG. 12. — *Culture pure d'Igname* (D. cayenensis), *tuteurée, sur billons dans le sens de la pente, à Petit-Bourg* (*Guadeloupe*).

### C. — *Petitesse des plantations*

La propriété vivrière aux Antilles va de quelques ares à un ou deux hectares. La parcelle d'Igname s'inscrit ainsi le plus souvent dans les limites du travail d'une famille dépourvue d'engins mécaniques pour la plantation, l'entretien et la récolte. C'est aussi le cas général dans l'ensemble de son aire de culture (COURSEY, 1967).

Telle que, la multiplicité des parcelles liée à une abondante petite paysannerie conduit à des surfaces non négligeables. Ainsi en Jamaïque, l'Igname occupe plus de la moitié des surfaces en plantes à tubercule avec quelque 60 000 ha (RANKINE, 1974). La plupart des quelque 20 000 petites exploitations agricoles des Antilles françaises ne dépassent par 1,5 ha (LASSERRE, 1972) mais presque toutes ont quelques ares d'Igname.

La culture traditionnelle était basée sur des buttes de 0,75 à 2 m de diamètre ou des « fosses » de 30 à 50 cm de profondeur, préparées à la fourche. Elles recevaient 1 à 5 plants pesant 150 g à 1 kg chacun. A défaut des troncs laissés au défrichement, des tuteurs de 2 à 5 m de hauteur, reliés à la base des tiges d'Igname par des cordons d'écorce, accueillent un nombre variable de plantes. Cette mise en place et le sarclage régulier, minutieux, nécessitent un important travail. La récolte est encore plus exigeante. Elle est effectuée aux Antilles à la fourche

ou au coutelas, plante par plante, en suivant les courbes et les profondeurs de croissance parfois imprévues des tubercules; rappelons la nécessité (*D. cayenensis*) d'opérer parfois une section haute du tubercule et de l'extraire à travers le système racinaire sans détruire celui-ci.

Ces conditions de travail et les plus-values dégagées rendent compte de la petitesse des surfaces de l'exploitant traditionnel.

Aujourd'hui de nombreuses exploitations adoptent la préparation du sol au tracteur, en billons, très souvent orientés dans le sens de la pente pour assurer le drainage le plus rapide (fig. 12). Des plantations ou des récoltes partiellement mécanisées ont été essayées (à Trinidad (Coursey, 1967)), à la Barbade (Gooding et Hoad, 1967) en Afrique (Dumont, Renaut, Vandevenne, 1971)). La suppression des tuteurs a paru possible dans certains cas (*D. alata, D. trifida*) (fig. 13). Mais sauf peut-être à la Barbade, peu d'innovations ont été retenues qui feraient de la culture de l'Igname une culture « industrielle ».

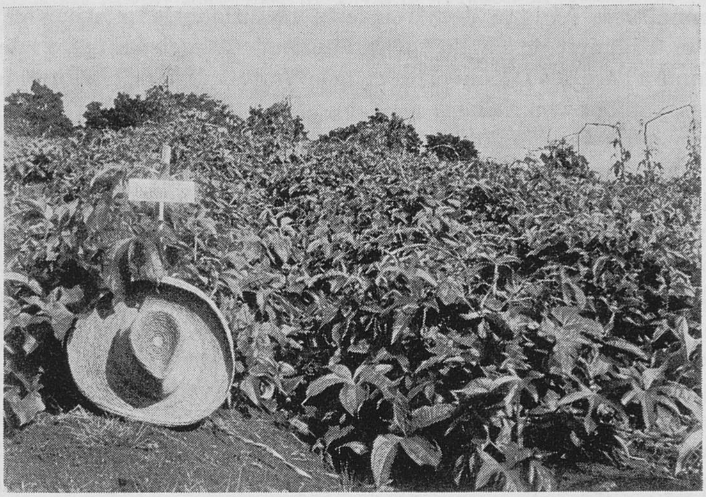


Fig. 13. — *Culture de Cousse-couche* (D. trifida) *hybride I.N.R.A.* 25, *non tuteurée, sur billons en travers de la pente, au Domaine Duclos* (*I.N.R.A.*) *à Petit-Bourg* (*Guadeloupe*).

### D. — *Vocation alimentaire de l'Igname*

L'utilisation médicale, ou comme poison, de nombreuses espèces (non alimentaires) est traditionnelle et a connu de récents développements (stéroïdes précurseurs de progestérone) (Coursey, Martin, 1970). Mais c'est une utilisation marginale de l'accumulation énorme de réserves dont cette plante est capable. Il a été établi (Coursey et Haynes, 1970) que l'accumulation d'hydrate de carbone dans le cas des meilleurs rendements d'Igname, avec $266 \times 10^3$ kg/cal/ha/j était supérieure à celle du Maïs ($200 \times 10^3$/ha/j). Certes, la teneur moyenne en protéine paraît faible, de l'ordre de 1 à 2 p. 100 du poids frais. Mais on reconnaît une variabilité interspécifique et intraspécifique notable dans cette teneur et dans les proportions des acides aminés (Splittstoesser, Martin et Rhodes, 1973).

L'utilisation alimentaire est très saisonnière pour les espèces à cycle relativement long et dormance brève telle que la Cousse-couche. Elle est plus étalée pour les récoltes échelonnées de *D. cayenensis* ou, par suite de sa longue dormance pour *D. alata* en Afrique et aux Antilles. La conservation des tubercules est traditionnellement accrue par l'application de la cendre de bois sur les surfaces de coupe et les blessures. Parfois, aussi des fosses spéciales isolent dans la terre, dans le sable ou dans les feuilles sèches les tubercules récoltées. *D. alata* se conserve bien à l'air libre sous abri (COURSEY, 1967). Mais les premières études (BEEN, THOMPSON, PERKINS, 1974; RICCI, TORREGROSSA, FOURNET, 1974) montrent la possibilité d'étendre encore par des mesures sanitaires simples et une légère réfrigération la durée du stockage des tubercules d'Igname.

### E. — *Autoconsommation prédominante*

On connaît en Afrique des transferts traditionnels relativement lointains de tubercules d'Igname, et en Polynésie l'aptitude à la conservation de *D. alata* a permis, comme à l'ère des Découvertes et de la Traite négrière, d'assurer les « vivres ». sur de longs parcours maritimes.

Ces transports cependant sont moins caractéristiques de l'utilisation de la plante que son intégration dans les rites religieux de nombreuses ethnies d'Océanie (Tonga, Fidji, Salomon...) et d'Afrique (Baoulé de Côte d'Ivoire, Ewé du Togo, Ibo du Bénin...). De véritables « civilisations de l'Igname » la réservaient aux sacrifices de prémices et faisaient de sa récolte le point de départ de l'année nouvelle (FRAZER, 1935, COURSEY, 1967). L'Igname a ainsi bénéficié de l'attention technique empirique des cultivateurs et d'un attachement culturel qui expliquent sa persistance en dépit des pressions du monde contemporain.

Certes, la diffusion de la Banane, du Manioc, de la Patate, des Taros, a pu ici ou là faire régresser l'Igname. Domination économique et prestige du modèle européen ont fait reculer aux Antilles sa consommation. Mais la petite exploitation agricole quoique dépendante du système des plantations d'exportation n'en reçoit pas assez de revenus pour s'intégrer à l'économie de marché. Elle s'appuie donc sur une agriculture de subsistance où les traditions culturales et les habitudes alimentaires, si elles ne sont pas toujours associées à un haut rendement (WALTER, 1974), réservent encore à l'Igname un rôle considérable.

Aujourd'hui, la migration massive d'originaires de l'aire de culture de l'Igname vers les marchés de travail urbains, locaux ou européens, une revalorisation des originalités régionales et la diversification alimentaire dans les pays développés créent une demande d'exportation (BACHOU, 1974). En plus des études de prolongation de la dormance, celles de transformation industrielle des tubercules sont dès lors nécessaires (SAMMY, 1974).

En conclusion, tout porte à croire, qu'après une époque de méconnaissance des possibilités biologiques, agronomiques et nutritionnelles de l'Igname, il sortira des études en cours et de l'amélioration génétique de la plante, une utilisation plus rationnelle et plus intense de ses capacités.

*Reçu pour publication en mai 1976.*

## Addendum

La thèse de D. Bourret (1973), dont nous venons d'avoir connaissance, permet de rectifier l'appartenance d'un clone introduit d'Océanie aux Antilles. Il s'agit de *D. transversa* et non de *D. nummularia*.


## Summary

*Some aspects of the biology of yams* (Dioscorea *sp. p.*)

### I. — *The yams and their cultivation*

Since one or two decades, the biological and agronomical knowledge of yams is developing. But, in spite of the food value and economical importance of this culture, this knowledge is not fully used.

From researches carried since 1965 by I.N.R.A. (France) in Guadeloupe (F.W.I.) and from litterature data, the diversity and complexity of the *Dioscorea* genus are emphasized. Sexual offsprings and clonal morphology of *D. trifida*, clonal type of *D. alata*, *D. cayenensis s.l.*, *D. bulbifera*, and other noteworthy species are described, their essential morphological traits being synthetized into a schematic representation of the genus.

Traditional cultivation conditions and utilisation basis are recalled as well as new tendancies. This paper is the first of a series dealing also with growth, development and genetic improvement of the main yam species.


## Références bibliographiques


Archibald E. E. A., 1967. The genus *Dioscorea* in the Cape Province West of East London. *J. South. Afr. Bot.*, **33**, 1-46.

Arnolin R., Poitout R., Degras L., 1973. Yams plantation density trials in Guadeloupe. 11th *Annu. Meet.*, *Proc. Carib. Food Crops Soc.*, Barbados, 3 p.

Ayensu E. S., 1972. *Anatomy of the Monocotyledons.* VI. *Dioscoreales*, C. R. Metcalfe (ed.), 182 pages. Clarendon Press, Oxford.

Bachou J. C., 1974. Compte rendu de la mission effectuée en métropole du 25 avril au 3 mai 1974. *Nouv. maraichères et vivrières I.N.R.A. Antilles*, **9**, 39-46.

Been B. O., Thompson A. K., Perkins C., 1974. Effects on curing of storage of yams. *Carib. Food Crops Soc.* **12**th *Annu. Meet.*, Jamaïca.

Bertin J., Hemard Inquer J. J., Keul M., Randles W. G. L., 1971. *Atlas des cultures vivrières*, E.P.H.E., Paris, Mouton et Cie.

Bourret D., 1973. Étude ethnobotanique des *Dioscoreacées* alimentaires. Igname de Nouvelle Calédonie. *Thèse Doctorat* 3e *cycle. Spécialité : Biologie végétale.* Paris, 135 pages.

Burkill I. H., 1960. The organography and the evolution of Dioscoreaceae, the family of the Yams. *J. Linn. Soc. Bot.*, **56**, 367, 319-412.

Campbell, J. S., Chukwueke V. O., Teriba F. A., Ho-a-Shu H. V. S., 1962. Some physiological experiments with the white Lisbon Yam (*Dioscorea alata* L.). *Emp. J. exper. Agric.*, **30**, 118, 108-114; 119, 232-238.

Chapman T., 1965. Some investigations into factors limiting yields of the white Lisbon Yam (*Dioscorea alata* L.) under Trinidad conditions. *Trop. Agric. Trin.*, **42**, (2), 145-151.

Chevalier A., 1936. Contribution à l'étude de quelques espèces africaines du genre *Dioscorea*. *Bull. Mus. Nat. Hist. nat.*, **8**, 520-551.

Coursey D. G., 1976. *Yams.* Longmans, London, 230 p.

Coursey D. G., Martin F. W., 1970. The past and future of the yams as crop. **2**d *Intern. Symp. tropical Root Crops*, Hawaii, **1**, 87-90.

Coursey D. G., Haynes R. H., 1970. Root crops and their potential as food in the tropics. *World crops*, **22**, (4), 261-265.

CUSSON J., COLLADANT M., 1958. L'Igname. *Bull. techn. Inf.*, **130**, 303-305.

DEGRAS L., 1956. *Travaux du laboratoire de génétique. Station expérimentale des plantes alimentaires de Bouaké. Rapport annuel*, dactylo, 190 p. Archives I.N.R.A. Guadeloupe.

DEGRAS L., 1957. *Travaux du laboratoire de génétique. Station expérimentale des plantes alimentaires de Bouaké. Rapport annuel*, manuscrit. Archives I.N.R.A., Guadeloupe.

DEGRAS L., 1967. Growth and storage in tropical root crops. *Inter. Symp. tropical Root Crops*, Trinidad, **1**, 18-30.

DEGRAS L., 1969. Quelques données sur la variabilité de descendances d'Igname Cousse-couche *D. trifida*. **7**th *Annu. Meet. Proc. Carib. Food Crops Soc.*, Guadeloupe-Martinique, 59-65.

DEGRAS L., 1970. Morphology, physiology and selection of three tropical root crops. *Proc.* **11**rd *Inter. Symp. trop. Root Crops*, Hawaii, **1**, 163-165.

DEGRAS L., ARNOLIN R., SUARD C., POITOUT R., 1971. New informations about *Dioscorea trifida* Cush-cush yam selection. **9**th *Annu. Meet. Proc. Carib. Food Crops Soc.*, Guyana.

DEGRAS L., ARNOLIN R., POITOUT R., 1972. Principal yams introduced and grown in the French West Indies. Caribbean Food Crop Society. **10**th *Annu. Meet. Proc. Carib. Food Crops., Soc.*, Porto-Rico.

DEGRAS L., ARNOLIN R., POITOUT R., 1973. Sélection de l'Igname Cousse-couche (*Dioscorea trifida* L.). **3**rd *Intern. Symp. trop. Root Crops*. Ibadan-Nigéria, Multigraphie, 10 p.

DEGRAS L., MATHURIN P., SUARD C., 1975. New results in yam multiplication. **13**th *Annu. Meet. Proc. Carib. Food Crops Soc.*, Trinidad.

DUMONT C., RENAUT G., VANDEVENNE R., 1971 Intégration de la culture de l'Igname dans un système de culture modernisée. *C. R. de l'I.R.A.T., Côte d'Ivoire. Séminaire Plantes à racines et tubercules*, Ibadan, 8 p.

EMBERGER L., 1960. Phanérogames, in EMBERGER L. et CHADEFAUD M. *Traité de botanique systématique*, **2**, Masson et Cie, Paris.

ENYI B. A. C., 1970. Yams in Africa. *Proc.* **2**rd, *Intern. Symp. trop. Root Crops*. Hawaii, **2**, 90-93.

FERGUSON T. U., 1972. The propagation of *Dioscorea* spp. by vine cuttings, a critical review. *Trop. Root Tuber Crops Newsletter*, **5**, 4-7.

FERGUSON T. U., 1974. Agronomic techniques in Yams (*Dioscorea* spp.) production in the Caribbean region. **12**th *Annu. Meet. Proc. Carib. Food Crops Soc.*, Jamaïque, 22 p.

FERGUSON T. U., HAYNES P. H., SPRINGER B. C. F., 1969. A study of variability in yams. *Caribbean Food Crop Soc.* **7**th *Annu. Meet.*, Martinique-Guadeloupe, 50-58.

FRAZER J. G., 1935. *Le cycle du rameau d'or : Esprit des Blés et des Bois*, Vol. II, P. Geuthner, Paris, 360 p.

GOODING E. G. B., HOAD R. M., 1967. Problems of yams cultivation in Barbados. *Intern. Symp. trop. Root Crops*, Trinidad.

GREGORY L. E., 1968. Factors that influence vegetative bud development in rootstock segments of *Dioscorea composita* and *D. floribunda*. *J. Agric. Univ. Puerto-Rico*, **52** (2), 155-163.

GUILLIERMOND A., MANGENOT G., 1946. *Biologie végétale*. Masson, 1100 p.

GUMBS G. F., FERGUSON T. U., 1975. Soil physical factors and yield of Yams. **13**th *Annu. Meet. Proc. Carib. Food Crops Soc.*, Trinidad.

HAHN S. K., HOWLAND A. K., SINGH S. R., 1973. Yield and yield components of Yams. **3**d *Intern. Symp. Trop. Root Crops*, Ibadan, Nigeria.

HASEGAWA K., HASHIMOTO T., 1974. Gibberellin-induced dormancy and batatasin content in yam bulbils. *Plant Cell Physiol.*, **15**, 1-6.

HASHIMOTO T., HASEGAWA K., KAWADA A., 1972. Batatasins : new dormancy-inducing substances of Yams bulbils. *Planta* (Berl.), **108**, 369-374.

HAUMAN L., 1916. Les Dioscaréacées de l'Argentine. *An. Mus. nac. Hist. nat.*, B. Aires, **27**, 441-513.

HAYNES R. H., SPENCE J. A., WALTER C. J., 1967. The use of physiological studies in the agronomy of root crops. *Proc. Inter. Symp. Trop. Root Crops*, Trinidad, **1**, II, 1-17.

HENRY V. C. R., 1967. Studies on botanical and agronomic characteristics in Cush-cush (*Dioscorea trifida* L.). *Thèse Mc. Gill University*, Montréal, Canada.

KNUTH R., 1924. *Dioscoreaceae*, in ENGLER. *Das Pflanzenreich*, **87** (IV, 43), p. 1-387. (D'après COURSEY (1967), AYENSU (1972).)

LASSERRE G., 1972. La petite propriété des Antilles françaises dans la crise de l'économie de plantation in *Études de géographie tropicales offertes à P. Gourou*, Mouton et Cie, Paris.

LAWTON J. R., LAWTON J. R. S., 1969. The development of the tuber in seedlings of five of *Dioscorea* from Nigeria. *Bot. J. Linn. Soc.*, **62**, 223-232.

MANTELL S. H., MOHAMED N., HAQUE S. Q., PHELPS R. H., 1974. Some observations on internal brown spot and virus-like symptom of Yam (*Dioscorea* spp.) in the Commonwealth Caribbean. **12**th *Annu. Meet. Proc. Carib. Food Crops Soc.* Jamaïca.

MANTELL S. H., MOHAMED N., HAQUE S. Q., PHELPS R. H., 1975. The distribution pattern of internal brown spot disease in *Dioscorea alata* L. cv. White Lisbon. **13**th *Annu. Meet. Proc. Carib. Food Crops Soc.*, Trinidad.

MARTIN F. W., ORTIZ S., 1963 *a*. Chromosomes numbers and behavior in some species of *Dioscorea. Cytologia*, **28**, 96-101.

MARTIN F. W., ORTIZ S., 1963 *b*. Origin and anatomy of tubers of *Dioscorea floribunda* and *D. spiculiflora. Bot. Gaz.*, **124**, 6, 416-421.

MARTIN F. W., 1966. Sex ratio and sex determination in *Dioscorea. J. Hered.*, **57**, 3, 95-99.

MARTIN F. W., 1970. Current status of the sapogenin-bearing yams. 2d *Intern. Symp. Trop. Root Crops* Hawaii, 99-101.

MARTIN F. W., 1974 *a*. Tropical yams and their potential. Part 1. *Dioscorea esculenta. Agric. Handbook U.S.D.A.*, **457**, U.S.A.I.D. Washington, 18 p.

MARTIN F. W., 1974 *b*. Tropical yams and their potential. Part 2. *Dioscorea bulbifera. Agric. Handbook U.S.D.A.-U.S.A.I.D.-I.N.R.A.* Washington, 20 p.

MARTIN F. W., DEGRAS L., 1976. Tropical yams and their potential. Part. 5. *Dioscorea trifida. Agric. Handbook, U.S.D.A.-U.S.A.I.D.-I.N.R.A.* (sous presse), Washington.

MATHURIN P., DEGRAS L. Effects of division levels of seed tubers on Yams (*D. alata, D. trifida*) germination and yield. **12**th *Annu. Meet. Proc. Carib. Food Crops Soc.*, Jamaïca, 9 p.

MATUDA E., 1954. Las Dioscorea de Mexico. *An. Inst. Biol. Univ. Mex.*, **24**, 279-390.

MESSIAEN C. M., 1974. *Le Potager tropical.* P.U.F., Paris, 3 vol., 567 p.

MIEGE J., 1950. Caractères du *Dioscorea minutiflora* Engl., R.B.A., Juillet-août.

MIEGE J., 1952. Contribution à l'étude systématique des *Dioscorea* ouest-africaines. *Thèse Sciences, Paris*, 266 p., multigraphie.

MIEGE J., 1957. Influence de quelques caractères des tubercules semences sur la levée et le rendement des Ignames cultivées. *J. Agric. trop.*, **4**, 7-8, 316-342.

MIEGE J., 1958. Deux Ignames ouest-africaines à tubercules vivaces. *Bull. I.F.A.N.*, **20**, A, 1, 39-55.

MIEGE J., 1968. *Dioscoreaceae*, in HUTCHINGSON J., DALZIEL J. M., HEPPER F. N., *Flora of West Tropical Africa*, 2d Edit., London, **3**, part 1, 144-154.

MINTHZ S. W., 1968. Petits cultivateurs et prolétaires ruraux dans la région des Caraïbes, p. 93-100 in *Les problèmes agraires des Amériques latines.* Colloque intern. C.N.R.S., Paris.

MOHAMED N., MANTELL S. H., 1975. Some observations on a virus disease of yam (*Dioscorea* spp.) foliage **13**th *Annua. Meet. Carib. Food Crops Soc.*, Trinidad.

QUEVA C., 1894. Recherches sur l'anatomie de l'appareil végétatif des Taccacées et des Dioscorées. *Mém. Soc. Sci. Agric.*, Lille, Sér. 4, **20** (1), 1-457.

RANKINE L. B., 1974. Some economic aspects of root crops production in Jamaïca. **12**th *Annu. Meet. Carib. Food Crops Soc.*, Jamaïca, 58 p.

RICCI P., TORREGROSSA J. P., FOURNET J., 1974. Storage diseases of Cush-cush yams in Guadeloupe. **12**th *Annu. Meet. Carib. Food Crops Soc.*, Jamaïca.

SADIK S., OKEREKE O. U., 1975 *a*. A new approach to improvement of Yam *Dioscorea rotundata. Nature*, **254**, 5496, 134-135.

SADIK S., OKEREKE, O. U., 1975 *b*. Flowering, pollen grain germination, fruiting, seed germination and seedling development of White Yam, *Dioscorea rotundata.* POIR. *Ann. Bot.*, **39**, 597-604.

SAMMY G. M., 1974. Root crops processing research at the University of the West Indies. **12**th *Annu. Meet. Carib. Food Crops Soc.*, Jamaïca.

SAWADA E., 1952. Uber die wahre Natur der Erd-und duftknollen von *Dioscorea Batatas* Decne. *J. Fac. Agric. Hokkaido Univ.*, **47** (4), 267-314.

SPLITTSTOESSER W. E., MARTIN F. W., RHODES A. M., 1973. The amino acid composition of five species of yams (*Dioscorea*). *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **98**, 6, 563-567.

UMANAH E. E., 1973. Effects of different rates of NPK fertilizers on yield and storage properties of White yam (*Dioscorea rotundata*). **3**d *Intern. Symp. I.S.T.R.C.*, Ibadan, Nigeria.

WALTER C. J., 1974. Prospects for tropical root crops in the Eastern Caribbean. **12**th *Annu. Meet. Carib. Food Crops Soc.*, Jamaïca, 11 p.

MAYNARD, [illegible] 1972. Some recent observations on bacterial [illegible] of Manihot esculenta [illegible]
[illegible]
[illegible] 1973. [illegible]
MARTIN F. W., [illegible] 1973. [illegible]
[illegible]
MARTIN F. W., 1970. [illegible]
MARTIN F. W., 1974 a. Tropical yams and their potential. Part 1. [illegible]
MARTIN F. W., 1974 b. Tropical yams and their potential. Part 2. [illegible]
MARTIN F. W., [illegible] Tropical yams and their potential. Part 3. [illegible]
MAYNARD P., [illegible] Effects of [illegible]
[illegible]
MESSIAEN C. M., 1974. Le potager tropical. [illegible] Paris, [illegible]
MIÈGE J., 1952. Contribution à l'étude systématique des Dioscorea ouest-africains. [illegible]
MIÈGE J., 1957. Influence de quelques caractères des tubercules semences sur la levée et le rendement des ignames cultivées. [illegible]
MIÈGE J., 1958. Deux ignames ouest-africaines [illegible]
MIÈGE J., 1968. [illegible]
[illegible]
[illegible]
[illegible]
PERREAUX [illegible]
[illegible]
RANKINE L. B., 1973. [illegible]
[illegible]
[illegible]
[illegible]
[illegible]
[illegible]
SAMPAIO [illegible]
[illegible]
[illegible]
SIMONS [illegible]
[illegible]
[illegible]
[illegible]
TROPICAL PRODUCTS INSTITUTE [illegible]
[illegible]
WALKER [illegible]
[illegible]
WILLIAMS C. N., 1974. Prospects for tropical root crops in the [illegible]
[illegible]

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (1), 25-34.

# Mise en évidence de la relation entre des résistances de la Tomate à deux maladies vasculaires : le Flétrissement bactérien (*Pseudomonas solanacearum* E.F. Sm.) et la Fusariose pathotype 2 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc) Snyd et Hans)

F. KAAN* et H. LATERROT**
avec la collaboration technique de J. MANYRI*, G. GELABALE*,
M. BERAMIS**, L. HINGAND** et Hélène THOMAS*

*Station d'Amélioration des Plantes,*
*Centre de Recherches des Antilles et de la Guyane, I.N.R.A.,*
*Domaine Duclos, 97170 Petit-Bourg, Guadeloupe*

* *Station d'Amélioration des Plantes maraîchères,*
*Centre de Recherches d'Avignon, I.N.R.A.,*
*Domaine Saint-Maurice, 84140 Montfavet, France*

** *Station de Pathologie végétale,*
*Centre de Recherches des Antilles et de la Guyane, I.N.R.A.*
*Domaine Duclos, 97170 Petit-Bourg, Guadeloupe*

---

## Résumé

Une liaison entre la résistance génétique plurifactorielle à *Pseudomonas solanacearum* sélectionnée en Caroline du Nord, à Porto Rico, en Martinique et en Guadeloupe et une nouvelle résistance plurifactorielle au *Fusarium* pathotype 2, est établie. L'hypothèse d'une pléiotropie est envisagée de préférence à celle d'un linkage génétique.

---

## Introduction

Nous utilisons comme géniteur de résistance à *Pseudomonas solanacearum* la lignée CRA 66 (DIGAT, DERIEUX, 1968). Or nous avons également montré que cette même lignée possède une nouvelle résistance plurifactorielle à *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* pathotype 2 dont le déterminisme génétique est distinct de celui où intervient seulement l'allèle $I_2$ décrit en 1966 par CIRULLI et ALEXANDER (LATERROT et KAAN, 1975).

N. B. — Nous utilisons ici l'ancienne nomenclature des pathotypes de *Fusarium* antérieure à la proposition de la British mycological Society (*Rev. Plant. Pathol.*, 1975, **54**, 7, Abstr., n° 2791).

Cette double résistance peut être due soit à la coexistence au sein d'un même génotype de plusieurs facteurs indépendants ou liés, régissant la réaction à l'une ou à l'autre des deux maladies soit à un effet de pléiotropie des facteurs génétiques sur les deux caractères.

L'étude de la relation entre ces deux résistances a été entreprise sur des descendances d'hybrides réalisés entre CRA 66 et des lignées dépourvues de résistance par le moyen d'essais jumelés de résistance, où les mêmes séries de populations étaient éprouvées d'une part pour la résistance au *Fusarium* Pathotype 2 et d'autre part pour la résistance au *Pseudomonas*. Ces populations sont définies plus bas.

Les résultats obtenus dans cette première étude nous amenèrent à vérifier si cette association se retrouvait dans les génotypes obtenus dans des programmes de sélection pour la résistance au *Pseudomonas* menés par d'autres laboratoires.

Enfin, nous avons étudié de la même manière quelques populations primitives originaires de régions d'Amérique tropicale où sévissent les deux maladies.

## Matériels et méthodes

### *Description détaillée du matériel génétique utilisé*

Les quatre premiers groupes correspondent à des ensembles de descendances ou lignées apparentées, chacun étant créé à partir d'un ou plusieurs géniteurs de résistance au *Pseudomonas* par les différents programmes de sélection.

Groupe 1 : *Descendances de la lignée CRA 66* (programme de sélection de l'I.N.R.A. Guadeloupe pour la résistance au *Pseudomonas*).

Ce géniteur se rattache en réalité au groupe 2 car il paraît directement issu de la population OTB 2 obtenue au Japon (Suzuki *et al.*, 1964) à partir d'une population obtenue à l'Université d'État de Caroline du Nord (NC 1953. 64 N). Nous y avons donc rajouté OTB 2, très peu différent de CRA 66.

| | Nos |
|---|---|
| Lignée CRA 66 | 1 |
| Lignée « Cranita » 2.5.7 | 2 |
| Lignée « Cranita » 3.4.10 | 3 |
| $F_4$ (CRA 66 × « Floradel ») 303.3 | 4 |
| $F_5$ (CRA 66 × « Floradel ») 620.4.11 | 5 |
| Lignée (CRA 66 . « Floradel ») 620.4.B | 6 |
| Lignée CRA 74 | 7 |
| Variété « Carette » | 8 |
| Lignée (CRA 66 × « Floradel ») 620 2 RC 1 53 RC 1 14 | 9 |
| $F_1$ CRA 66 × « Floradel » | 10 |
| $F_2$ CRA 66 × « Floradel » | 11 |
| $F_3$ CRA 66 × « Floradel » 1 | 12 |
| $F_3$ CRA 66 × « Floradel » 4 | 13 |
| $F_3$ CRA 66 × « Floradel » 8 | 14 |
| $F_3$ CRA 66 × « Floradel » 16 | 15 |
| $F_3$ CRA 66 × « Floradel » 17 | 16 |
| $F_3$ CRA 66 × « Floradel » 20 | 17 |
| $F_3$ CRA 66 × « Floradel » 23 | 18 |
| $F_3$ CRA 66 × « Floradel » 24 | 19 |
| $F_3$ CRA 66 × « Floradel » 25 | 20 |
| Population OTB 2 | 21 |

Groupe 2 : *Lignées et variétés sélectionnées à l'Université d'État de Caroline du Nord* (E.U.A.) pour la résistance au *Pseudomonas* à partir d'origines primitives d'Amérique tropicale à petit fruit (B 3814 de Porto Rico, PI 129080 de Colombie) (HENDERSON, JENKINS, 1972).

| | Nos |
|---|---|
| Variété « Saturn » | 22 |
| Variété « Venus » | 23 |
| Lignée NC 72 TR 4.4 | 24 |
| Lignée NC 74 TR 10 | 25 |

Groupe 3 : *Lignées et descendances créées en Guadeloupe et en Martinique par l'I.R.A.T. et l'I.N.R.A.* à partir de la population « 199 » sélectionnée à l'Université de Porto Rico (CORDEIL et DIGAT, 1967) pour la résistance au *Pseudomonas.*

| | Nos |
|---|---|
| Lignée $L_3$ | 26 |
| $F_3$ ($L_3$ × « Floradel ») 3 | 27 |
| $F_3$ ($L_3$ × « Floradel ») 5 | 28 |
| $F_3$ ($L_3$ × « Floradel ») 6 | 29 |
| $F_3$ ($L_3$ × « Floradel ») 10 | 30 |
| $F_3$ ($L_3$ × « Floradel ») 12 | 31 |
| $F_3$ ($L_3$ × « Floradel ») 13 | 32 |
| $F_3$ ($L_3$ × « Floradel ») 15 | 33 |
| $F_3$ ($L_3$ × « Floradel ») 20 | 34 |
| $F_3$ ($L_3$ × « Floradel ») 21 | 35 |
| $F_3$ ($L_3$ × « Floradel ») 22 | 36 |

Groupe 4 : *Lignées et descendances sélectionnées à l'Université d'Hawaii* pour la résistance au *Pseudomonas* à partir de PI 127805, population péruvienne primitive (GILBERT *et al.*, 1974).

| | Nos |
|---|---|
| PI 127805 A = Hawaii 5808-2 | 37 |
| Hawaii 7750 | 38 |
| Hawaii 7755 | 39 |
| « Kewalo » | 40 |

Groupe 5 : *Populations primitives d'Amérique tropicale* originaires des zones où peuvent sévir les deux maladies :

| | Nos |
|---|---|
| PI 126408 (orig. Panama) | 41 |
| « Bouzyanna » (orig. Guyane) | 42 |
| « Mahuri » (orig. Guyane) | 43 |
| « Montjoly » (orig. Guyane) | 44 |
| « Maripasoula » (orig. Guyane) | 45 |
| « Sinnamary » (orig. Guyane) | 46 |

Groupe 6 : *Un témoin sensible aux deux maladies*, la variété très cultivée aux Antilles :

| | Nos |
|---|---|
| « Floradel » | 47 |

*Appréciation de la résistance*

Chaque population est testée séparément en inoculation artificielle pour la résistance aux deux maladies. Chaque essai de résistance à une maladie porte sur plusieurs populations à tester, dont les témoins. En général, on procède à un essai de résistance à l'autre maladie, sur les mêmes populations. Nous avons choisi les lignées et descendances en fonction des objectifs propres à cette étude, mais le choix obéit également à d'autres préoccupations :

— étude de la variabilité de l'espèce pour les résistances (étude 5),
— hérédité des résistances (études 1 et 4),
— appréciation des lignées obtenues au laboratoire en comparaison avec le matériel étranger (études 2 et 3).

— *Résistance au* Fusarium *Pathotype* 2

Elle est appréciée à Avignon sur des effectifs généralement supérieurs à 20 plantes par population. Les méthodes d'inoculation et d'observation ont déjà été décrites (LATERROT, 1972). Chaque population reçoit une note moyenne calculée en affectant de la note 0 les plantes saines, 3 les plantes présentant des nécroses vasculaires, et 5 les plantes mortes.

— *Résistance au* Pseudomonas

Elle est appréciée en Guadeloupe. Les plantes sont élevées sous abri plastique ouvert, dans un terreau infestable par le *Pseudomonas* (cf. note) mais préalablement stérilisé, en pots de 10 cm; 20 plantes par population sont observées dans un dispositif de 4 blocs randomisés.

L'inoculation est pratiquée à l'âge de 4 semaines. Chaque plante reçoit 5 ml d'inoculum (soit environ $5.10^9$ bactéries virulentes élevées en milieu levure, peptone, glucose, agar). L'inoculum est versé sur le terreau du pot, à l'endroit même où une fente verticale vient d'être réalisée avec un couteau, à 3 cm environ de la tige. La blessure est en effet nécessaire pour la pénétration des bactéries. Après 3 semaines, on note comme pour le *Fusarium* avec toutefois 4 classes intermédiaires selon l'importance des nécroses vasculaires au niveau de collet.

## Résultats

1° Étude de descendances $F_2$ et $F_3$ non sélectionnées d'un hybride du groupe 1 (n^os 11 à 20) plus les deux parents (n^os 1 et 47) (fig. 1).

Pour les $F_3$, le coefficient de corrélation linéaire entre les deux notations est de + 0,661, significatif au seuil 0,05. La $F_2$ est indiquée pour mémoire, le nombre de plantes étudié (20 par essai) étant évidemment insuffisant pour assurer un bon échantillonnage.

N. B. — Dans certains sols, le *Pseudomonas* ne peut s'établir, ou, s'il s'établit ne peut conserver sa virulence.

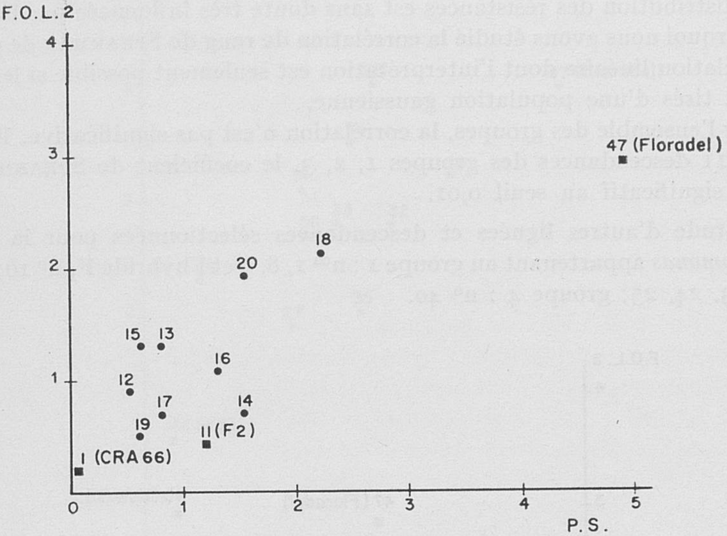



FIG. 1.

2° Étude de lignées et descendances sélectionnées pour la résistance au *Pseudomonas* appartenant au groupe 1 : n^os 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 21; groupe 2 : n^os 22, 23; groupe 3 : n° 26; groupe 4 : n^os 37, 38, 39.

Nous y avons ajouté une population primitive (groupe 5) n° 41 et le témoin sensible aux deux maladies n° 47 (fig. 2).

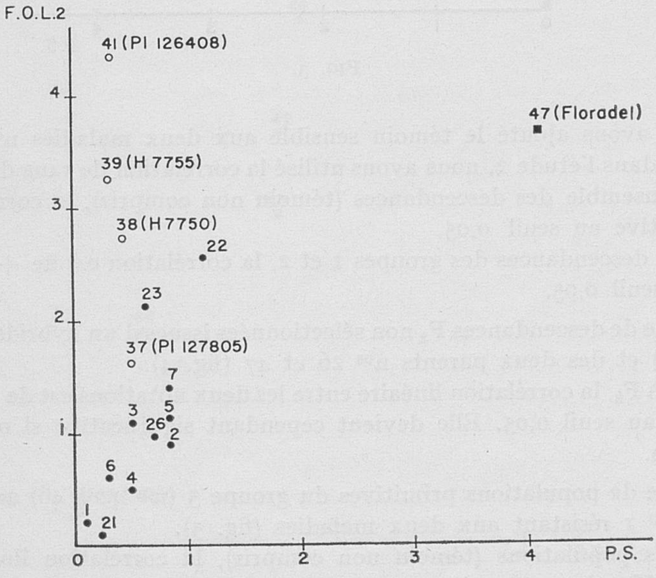



FIG. 2.

La distribution des résistances est sans doute très influencée par la sélection. C'est pourquoi nous avons étudié la corrélation de rang de SPEARMAN de préférence à la corrélation linéaire dont l'interprétation est seulement possible si les échantillons sont tirés d'une population gaussienne.

Pour l'ensemble des groupes, la corrélation n'est pas significative. Par contre, pour les 11 descendances des groupes 1, 2, 3, le coefficient de SPEARMAN est de + 0,839 significatif au seuil 0,01.

3° Étude d'autres lignées et descendances sélectionnées pour la résistance au *Pseudomonas* appartenant au groupe 1 : n^os^ 1, 8, 9 et l'hybride $F_1$ n° 10; groupe 2: n^os^ 22, 23, 24, 25; groupe 4 : n° 40.

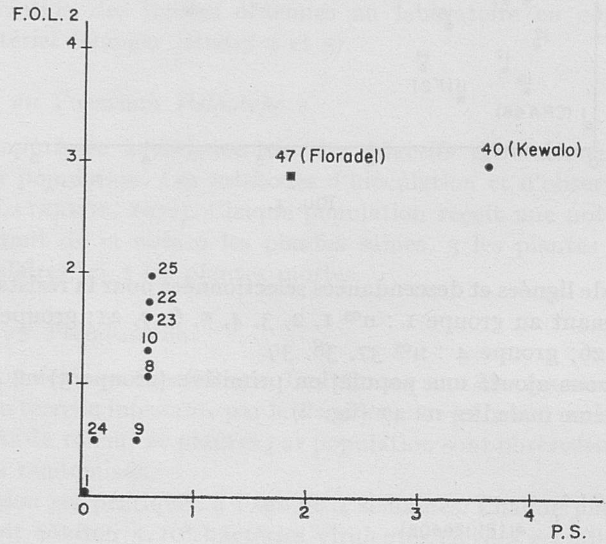



FIG. 3.

Nous y avons ajouté le témoin sensible aux deux maladies n° 47 (fig. 3).

Comme dans l'étude 2, nous avons utilisé la corrélation de rang de SPEARMAN.

Pour l'ensemble des descendances (témoin non compris), la corrélation n'est pas significative au seuil 0,05.

Pour les descendances des groupes 1 et 2, la corrélation est de + 0,798 significative au seuil 0,05.

4° Étude de descendances $F_3$ non sélectionnées issues d'un hybride du groupe 3 (n^os^ 27 à 36) et des deux parents n^os^ 26 et 47 (fig. 4).

Entre les $F_3$, la corrélation linéaire entre les deux notations est de + 0,450 non significative au seuil 0,05. Elle devient cependant significative si on ajoute les deux parents.

5° Étude de populations primitives du groupe 5 (n^os^ 42 à 46) accompagnées au témoin n° 1 résistant aux deux maladies (fig. 5).

Entre les populations (témoin non compris), la corrélation linéaire est de + 0,913 significative au seuil 0,05.

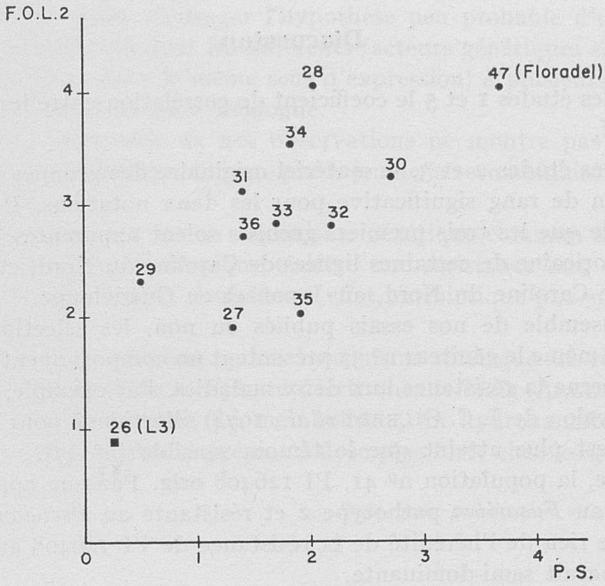

F.O.L.2
P.S.
0
1
2
3
4
28
47 (Floradel)
34
30
31
33
32
36
29
27
35
26 (L3)

FIG. 4.

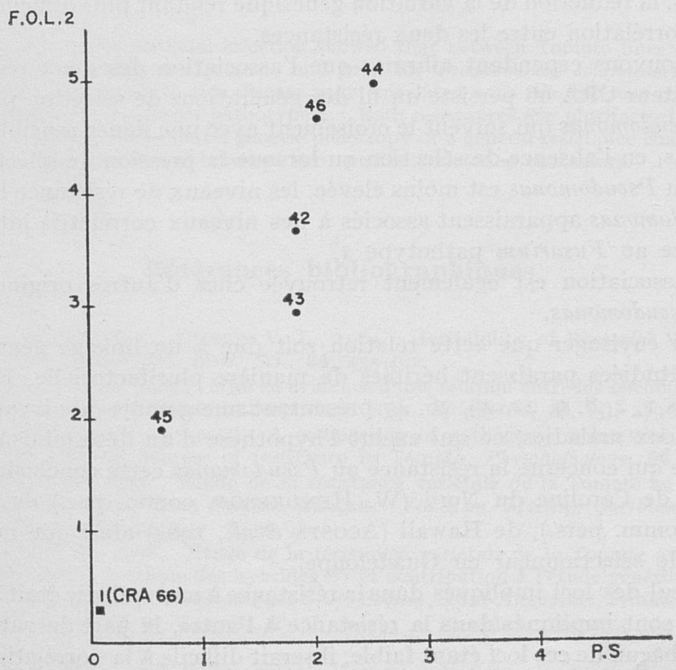

F.O.L.2
P.S
0
1
2
3
4
5
44
46
42
43
45
1(CRA 66)

FIG. 5.

## Discussion

*a*) Dans les études 1 et 5 le coefficient de corrélation entre les deux notations est significatif.

*b*) Dans les études 2 et 3, le matériel originaire des groupes 1, 2, 3 présente une corrélation de rang significative pour les deux notations. Il est possible et même probable que les trois premiers groupes soient apparentés, du fait de l'ascendance portoricaine de certaines lignées de Caroline du Nord, et de l'utilisation de matériel de Caroline du Nord, au Japon et en Guadeloupe.

Dans l'ensemble de nos essais publiés ou non, les sélections hawaiiennes du groupe 4 et même le géniteur n° 37 présentent un comportement assez fluctuant en ce qui concerne la résistance aux deux maladies. Par exemple, dans l'étude 3, le n° 40 (« Kewalo » de J. C. GILBERT *et al.*, 1974) sélectionné pour la résistance au *Pseudomonas* est plus atteint que le témoin sensible (n° 47).

Par contre, la population n° 41, PI 126408 orig. Panama apparaît constamment sensible au *Fusarium* pathotype 2 et résistante au *Pseudomonas*. Nous ne savons presque rien de l'hérédité de la résistance de PI 126408 au *Pseudomonas*, sinon qu'elle paraît semi-dominante.

*c*) Dans l'étude 4, la corrélation entre les deux notations chez les $F_3$ est faible. Ceci pourrait être dû à un mauvais échantillonnage (une vingtaine de plantes seulement pour chaque $F_3$) et aussi au fait que le niveau de résistance aux deux maladies du parent n° 26 (« L3 ») est moins élevé que celui de notre parent n° 1 (« CRA 66 »), la réduction de la variation génétique rendant plus difficile l'appréciation de la corrélation entre les deux résistances.

Nous pouvons cependant affirmer que l'association des deux résistances au sein du géniteur CRA 66 persiste au fil des générations de sélection pour la résistance au *Pseudomonas* qui suivent le croisement avec une lignée sensible aux maladies. De plus, en l'absence de sélection ou lorsque la pression de sélection pour la résistance au *Pseudomonas* est moins élevée, les niveaux de résistance intermédiaires au *Pseudomonas* apparaissent associés à des niveaux corrélatifs intermédiaires de résistance au *Fusarium* pathotype 2.

Cette association est également retrouvée chez d'autres origines de résistance au *Pseudomonas*.

Peut-on envisager que cette relation soit due à un linkage génétique? Les résistances étudiées paraissent héritées de manière plurifactorielle. En effet, les lignées fixées 1, 2, 8, 9, 22, 23, 26, 47 présentent une gamme de niveaux de résistance aux deux maladies, ce qui exclut l'hypothèse d'un déterminisme monogénique. En ce qui concerne la résistance au *Pseudomonas* cette conclusion confirme l'expérience de Caroline du Nord (W. HENDERSON, comm. per.) de Martinique (P. DALY, comm. pers.), de Hawaii (ACOSTA *et al.*, 1964) ainsi que notre propre expérience de sélectionneur en Guadeloupe.

Si un seul des loci impliqués dans la résistance à une maladie était lié à un seul de ceux qui sont impliqués dans la résistance à l'autre, la part de variation gouvernée par chacun de ces loci étant faible, il serait difficile à la corrélation observée d'apparaître aussi clairement. Nous sommes donc tentés de rejeter cette hypothèse.

On ne pourrait guère envisager l'hypothèse peu probable d'un caractère à déterminisme plurifactoriel dont les différents facteurs génétiques seraient respectivement liés (toujours dans le même sens d'expression) à plusieurs facteurs d'un autre caractère à déterminisme analogue.

D'autre part, l'ensemble de nos observations ne montre pas d'exemple de renversement de l'hypothétique linkage par le jeu de la recombinaison génétique au fil des générations.

Nous envisageons donc qu'un mécanisme génétique commun à déterminisme plurifactoriel et à effet pléiotropique confère une résistance aux deux maladies vasculaires. Le métabolisme d'alcaloïdes à effet antibiotique peu spécifique pourrait y être associé.

Il faut noter pour conclure qu'un mécanisme analogue de résistance à un champignon et à un papillon a déjà été décrit chez le Maïs (ANGLADE et MOLOT, 1967). Dans ce cas, un produit du métabolisme, un hydroxamate cyclique, est actif contre les deux parasites et présent à dose plus forte chez les génotypes résistants.

*Reçu pour publication en février 1976.*

## Summary

*Evidence of the relationship between two plurifactorially inherited resistances of Tomato to* Fusarium *and* Pseudomonas *vascular diseases*

Separate tests under artificial infection showed that between Tomato lines and offsprings from diverse origins, bearing the $I_2$+ gene, and bred for *Pseudomonas solanacearum* resistance, the different resistance levels to this disease were correlated with the different resistance levels to *Fusarium oxysporum lycopersici* pathotype 2. Both resistances are plurifactorially inherited. We inferred from these results that a genetic pleiotropy of a general resistance character is more probable than a genetic linkage between two specific resistance characters.

## Références bibliographiques

ACOSTA J. C., GILBERT J. C., QUINON V. L., 1964. Heritability of Bacterial Wilt resistance in Tomato. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **84**, 455-462.

ANGLADE P., MOLOT P. M., 1967. Mise en évidence d'une relation entre les sensibilités de lignées de Maïs à la Pyrale et à l'Helminthosporiose. *Ann. Epiphyties*, **18**, (3), 279-284.

CIRULLI M., ALEXANDER L. J., 1966. A comparison of pathogenic isolates of *F. oxysporum lycopersici* and different sources of resistance in Tomato. *Phytopathology*, **56**, 1301-1304.

CORDEIL J., DIGAT B., 1967. Étude de la résistance variétale de la Tomate au Flétrissement bactérien en Guadeloupe et en Guyane française. *Vth Ann. Meeting Caribbean Food Crops Society Paramaribo*, Surinam, v. **5**, 91-98.

DIGAT B., DERIEUX M., 1968. Étude de la résistance variétale de la Tomate au flétrissement bactérien. II. Valeur pratique des hybrides F1 et contribution à l'étude génétique de la résistance. *VIth Ann. Meeting Caribbean Food Crops Society*, Saint-Augustine, Trinidad, v. **6**, 95-101.

GILBERT J. C., TANAKA J. S., TAKEDA K. Y., 1974. « Kewalo » Tomato. *Hortscience*, **9**, 5, 481-482.

HENDERSON W. R., JENKINS S. F. Jr. 1972. « Venus » and « Saturn ». *Agric. Exper. Stat. North Carolina State Univer. Raleigh. Bulletin* 444, 13 p.

LATERROT H., 1972. Sélection de Tomates résistantes à *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*. *Phytopathol. mediterr.*, **11**, 3, 154-158.

LATERROT H., KAAN F., 1975. A new resistance to pathotype 2 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Rep. Tomato Genet. Coop.*, **25**, 13-14.

SUZUKI I., SUGAHARA Y., KOTANI A., TODAKA S., SHIMADA H., 1964. Studies on breeding Eggplant and Tomato for resistance to *Pseudomonas solanacearum*. I. *Engeishikenjo Hokoku*, Sér. A, 77-106 (in *Plant Breed. Abstr.*, **37**, 3 n° 5225).

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (1), 35-47.

# Responsabilité du génome D sur certaines isozymes β-amylase du grain de blé tendre

P. JOUDRIER et M. BERNARD*

*Laboratoire de Recherches sur la qualité des Blés, I.N.R.A., 16, rue Nicolas-Fortin, 75013 Paris*

**Station d'Amélioration des Plantes, Centre de Recherches de Clermont-Ferrand, I.N.R.A. Domaine de Crouelle, 63000 Clermont-Ferrand*

---

## Résumé

Dans un premier temps, l'examen de différents matériels : cultivars de blé tendre (génomes A, B, D) et de blé dur (génomes A, B), de souches d'*Aegilops squarrosa* (génome D), de formes tétraploïdes (génomes A, B) dérivées d'hexaploïdes (génomes A, B, D), a permis de démontrer que les isozymes du groupe $C_3$ du zymogramme de la β-amylase sont sous la dépendance du génome D.

Dans un deuxième temps, l'analyse des lignées monosomiques du cultivar « Courtot » et des lignées nullitétrasomiques de « Chinese spring » a permis de préciser que le chromosome 4 D était impliqué dans la synthèse des isozymes β-amylase du groupe $C_3$.

---

## Introduction

L'origine du blé tendre, *Triticum aestivum* (L.) THELL. ssp. *vulgare* (VILL.) M.K., ($2n = 42$; génomes A, B, D) est complexe. Deux événements d'amphiploïdisation sont intervenus incluant trois espèces diploïdes : l'une apportant le génome A : *Triticum monoccum*, une autre donnant le génome B : *Aegilops speltoides* (sa participation est sujette à controverse), la troisième fournissant le génome D : *Aegilops squarrosa*. Le blé alloploïde résultant de cette évolution porte donc des systèmes génétiques tripliqués.

SEARS (1952) a pu mettre en évidence l'existence de sept « groupes homéologues » (1 à 7), composés chacun de trois chromosomes (un par génome), en partie grâce aux tests de compensation nullitétrasomique. Des gènes, ayant des fonctions identiques ou similaires, ont été localisés sur des chromosomes appartenant à un « groupe homéologue ». Ainsi, grâce à l'utilisation des aneuploïdes du blé et à l'élec-

trophorèse, des « groupes homéologues » ont pu être impliqués dans la synthèse d'enzymes :

— les peroxydases dépendent du groupe homéologue 1 (MAY, d'après Mac INTOSH, 1973) mais également des chromosomes 7 A, 4 B, 7 D (KOBREHEL et FEILLET, 1975);

— les estérases sont contrôlées par les chromosomes des groupes 3, 6 et 7 (MAY, d'après Mac INTOSH, 1973; BERGMAN, 1973);

— les alcools déshydrogénases, les phosphatases acides (HART, 1970; HART, d'après Mac INTOSH, 1973) et les phosphatases alcalines (BREWER *et al.*, 1969) sont sous la dépendance du groupe homéologue 4;

— les chromosomes du groupe 6 sont impliqués pour les aminopeptidases (HART, d'après Mac INTOSH, 1973) et les α-amylases qui relèveraient également du groupe 7 (NISHIKAWA *et al.*, 1971).

Comme on sait d'une part que le génome D a une influence sur les propriétés meunières et boulangères du Blé tendre (MORRIS *et al.*, 1966; WELSH *et al.*, 1964) et d'autre part que la β-amylase intervient pour la valeur boulangère, il nous a paru intéressant de voir quelle pouvait être la responsabilité du génome D sur les isozymes de la β-amylase.

## Matériels et méthodes

### *Matériels d'étude*

Les matériels examinés sont constitués de :

— 230 cultivars de blé tendre : *Triticum aestivum* (L.) THELL, ssp. *vulgare* (VILL.) M. K., ($2n = 42$), d'origines très diverses : France, U.S.A., Canada, Mexique, U.R.S.S., Australie, Argentine, Inde. (La liste de certains cultivars utilisés, parmi les plus connus, est donnée plus loin).

— 30 cultivars de blé dur : *Triticum turgidum* THELL., ssp. *turgidum*, conv. *durum*, DESF. originaires de France, Italie, Tunisie, Argentine, Canada, et U.S.A. et dont voici les noms : « Agathe », « Amber durum W », « Amber durum Z », « Bidi 17 », « Biskri bouteille, « Blé d'Éthiopie », « Bonarense », « Capeiti », « Chili », « Garigliano », « Grifoni », « Kokini », « Kyperunda », « Lakota », « Lez », « Mahmoudi kasserine », « Maliani », « Montferrier », « M'rari », « Oued zenati », « Patrizio », « Roussia », « Russello », « Semoulor », « Taganrog Balcarce », « Taganrog Buck », « Wells », « Zenati bouteille », « 621-3 », « 623-5 ».

— 39 souches *d'Aegilops squarrosa* L., numérotées de 1 à 42 (absence des souches n^os^ 23, 31 et 33) d'après les références de la Station d'Amélioration des Plantes de Rennes, I.N.R.A.

— 3 variétés tétraploïdes (génomes A, B) obtenues de BUSHUK (Canada) et dérivant des cultivars de blé tendre : « Thatcher », « Rescue », « Prelude », par élimination du génome D (KALTSIKES *et al.*, 1968 *a*).

— 21 lignées monosomiques du cultivar de blé tendre « Courtot » (issu du croisement « Mexique 50 » × « B 21 ») arrivées au quatrième niveau de reconversion.

— 38 lignées nullitétrasomiques de « Chinese spring » obtenues par SEARS, quatre des lignées possibles (nulli 2 A-tétra 2 D et 2 B et nulli 4 A-tétra 4 D et 4 B) n'ayant pas été isolées.

## *Méthodes utilisées*

### a) *Extraction, fractionnement et révélation spécifique des β-amylases*

Dans un travail antérieur (JOUDRIER et BOURDET, 1972) nous avons mis en évidence trois formes d'activité β-amylasique par solubilisation différentielle :

— Deux d'entre elles sont solubles dans les solutions aqueuses ou salines : la forme β libre est directement active et la forme β dissimulée est activée par l'action d'un réducteur.

— la troisième forme, insoluble, appelée β liée, est rendue soluble et active par l'action d'un réducteur.

L'activité β-amylasique totale (somme des β solubles libre et dissimulée et de la β liée) est obtenue par action directe du réducteur.

Dans cette étude, nous avons travaillé sur deux formes de la β-amylase : β libre et β totale.

A partir du grain broyé, la β libre est solubilisée par la monochlorhydrine du glycol 5 p. 100 — NaCl 0,05 M (pH = 5,1) que l'on fait agir pendant 1 h à 20 °C.

La β totale est obtenue par réduction avec du mercaptoéthanol 0,2 M-NaCl 0,5 M (pH = 7) après contact de 16 h à 20 °C.

Les protéines sont fractionnées par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (concentration 7,5 p. 100; 8 V/cm; 5 h) en tampon lactate d'aluminium (pH = 3,2; force ionique 0,05).

Après migration, les isozymes β-amylase sont révélées spécifiquement : le gel est coupé en deux longitudinalement puis incubé à 40 °C pendant 30 mn dans une solution d'amidon 1 p. 100 (pH 4,5). Après lavages à l'eau, il est mis au contact d'une solution iodo-iodurée (2,6 g d'$I_2$ et 6 g de KI/l). Les enzymes apparaissent en bandes claires sur fond bleu-noir. Le gel est conservé dans une solution d'acide trichloracétique-éthanol-eau, puis photographié.

### b) *Interprétation des zymogrammes*

Dans une étude précédente (JOUDRIER, 1974), cinq types variétaux de zymogrammes ont été mis en évidence. Pour ce faire, il n'a été tenu compte que de la zone où les isozymes β-amylase libre ont la mobilité électrophorétique la plus élevée.

Depuis, l'examen d'un plus grand nombre de cultivars nous a permis d'en observer un sixième, représenté par le seul cultivar « Yaktana » (AURIAU *et al.*, 1976).

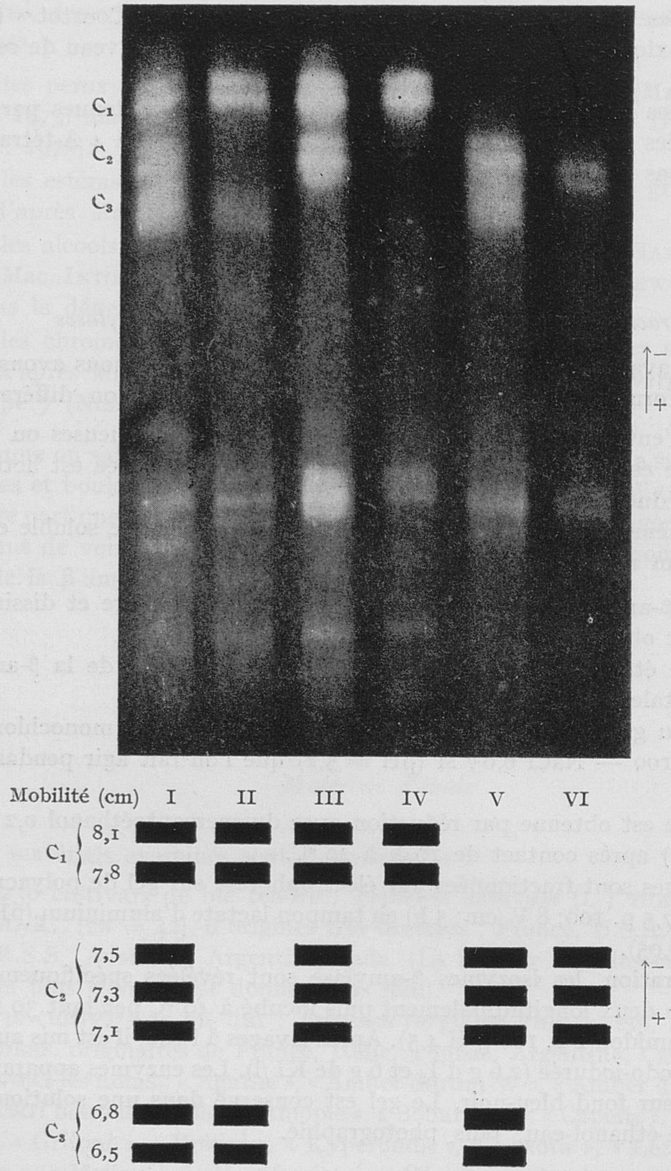



FIG. 1. — *Schéma des 6 types de zymogrammes de β-amylase libre observés.*
*Types* : I « Ciano », II « Capitole », III « Joss », IV « Cappelle », V « Azteca », VI « Yaktana ».

— La figure 1 donne les zymogrammes des 6 types de β-amylase libre identifiés; on peut observer deux régions distinctes; l'une, où les composants ont une mobilité faible (de 0 à 5,5 cm) et l'autre où leurs mobilités sont plus élevées (de 6,5 à 8,1 cm).

Au niveau de cette dernière région, nous avons trois groupes de constituants : $C_1$, $C_2$ et $C_3$.

$C_1$ comprend les isozymes les plus mobiles (de mobilité supérieure à 7,8 cm); $C_3$ les isozymes les moins mobiles (de 5,6 cm à 7 cm), $C_2$ étant la zone intermédiaire. La présence ou l'absence d'isozymes au niveau de $C_1$, $C_2$ et $C_3$ nous a permis de définir 6 types de zymogrammes (I à VI) parmi les 230 cultivars de blé tendre examinés (cf. schéma de la fig. 1). Dans la suite de l'exposé, nous ne tenons compte que de cette région pour l'interprétation des zymogrammes de β-amylase libre.

— La figure 2 donne les diagrammes de β-amylase totale des mêmes cultivars.

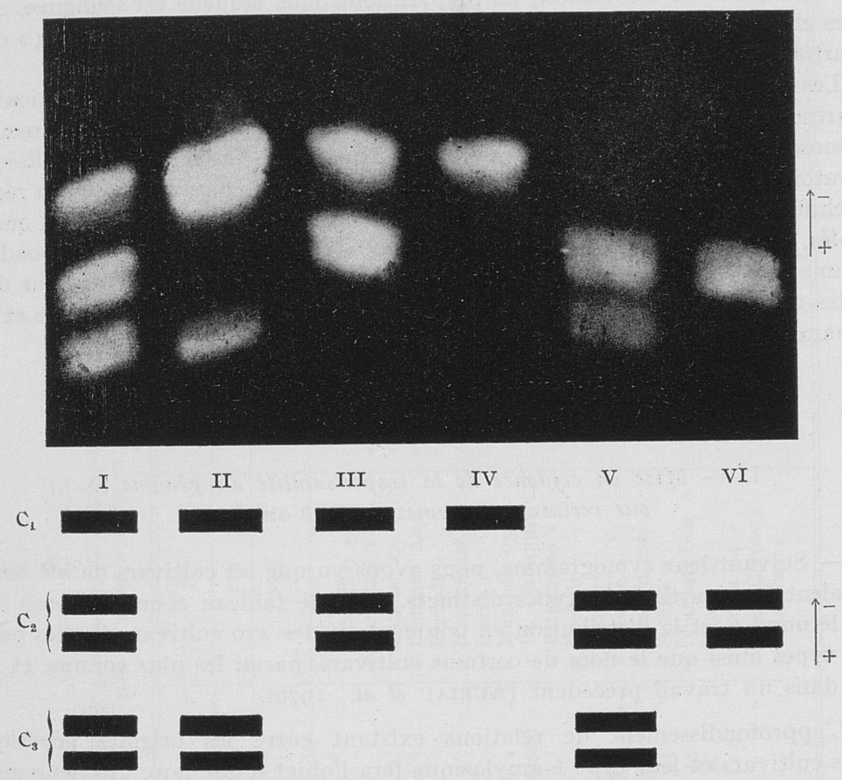



FIG. 2. — *Photo et schéma des 6 types de zymogrammes de β-amylase totale.*
*Types* : I « Ciano », II « Capitole », III « Joss », IV « Cappelle», V « Azteca », VI « Yaktana ».

Dans ce cas, on n'observe qu'une seule région qui correspond à celle où nous avons défini les groupes $C_1$, $C_2$ et $C_3$. Les constituants de faible mobilité (inférieure à 6 cm) ont disparu après action du réducteur — fait qui confirme les observations de DAUSSANT (1966) et de LABERGE *et al.*, 1967), sur les amylases de l'Orge — il est vraisemblable que ces formes labiles sont des agrégats moléculaires tels que les définit SCHIMPFESSEL (1971).

Les différents types, mis en évidence pour la β-amylase libre au niveau de la deuxième région, sont retrouvés pour la forme β totale avec toutefois des modifications en ce qui concerne le nombre d'isozymes, principalement au niveau des groupes $C_1$ et $C_2$ (cf. schéma de la fig. 2).

c) *Préparation des monosomiques*

Les lignées monosomiques soumises à l'analyse ont été obtenues par backcross du blé récurrent « Courtot », sur des plantes monosomiques, le jeu de lignées de départ étant celui de « Chinese spring ».

Ce programme de reconversion doit prochainement faire l'objet d'une mise au point (BERNARD et CAUDERON, en préparation) dans laquelle est soulignée, entre autres choses, l'identité d'organisation chromosomique de « Chinese spring » et de « Courtot ».

Les grains obtenus à la suite du quatrième rétrocroisement ont été sectionnés : la partie contenant l'embryon a été mise à germer en pot et les dénombrements chromosomiques ont été réalisés suivant la méthode classiquement utilisée au laboratoire de cytogénétique après coloration des méristèmes racinaires au réactif de Schiff. L'autre partie a été envoyée au laboratoire de recherches sur la qualité des blés, avec l'indication du nombre de chromosomes de l'embryon correspondant. Chacune des 21 lignées était représentée par plusieurs grains, obtenus sur deux plantes-mères différentes, de façon à permettre une répétition des analyses et une comparaison des couples 41-42 chromosomes.

## Résultats et discussions

### I. — *Mise en évidence de la responsabilité du génome* D *sur certaines isozymes de la β-amylase*

— Suivant leur zymogramme, nous avons vu que les cultivars de blé tendre pouvaient se répartir en 6 types distincts. Dans le tableau ci-contre, nous donnons le nombre et la distribution en pourcentage des 230 cultivars étudiés parmi ces 6 types ainsi que le nom de certains cultivars, parmi les plus connus, et non cités dans un travail précédent (AURIAU *et al.*, 1976).

L'approfondissement de relations existant entre les origines génétiques de ces cultivars et leur type β-amylasique fera l'objet d'une note ultérieurement.

Nous pouvons cependant souligner ici la prépondérance du type II (55 p. 100) dans cet échantillonnage et la rareté des types III et V et du VI en particulier.

— L'analyse de la collection de blé dur a montré que, contrairement à ce qui a lieu avec les blés tendres, tous les cultivars présentent le même type de zymogramme (IV), lequel renferme uniquement le groupe $C_1$.

— Parallèlement, les trois composantes tétraploïdes (génomes A, B) des cultivars hexaploïdes (génomes A, B, D) « Thatcher », « Rescue », « Prelude » ont été examinées. La figure 3 montre que les diagrammes des hexaploïdes sont du type II (présence des groupes $C_1$ et $C_3$) tandis que ceux des tétraploïdes dérivés présentent le zymogramme caractéristique des blés durs (type IV).

TABLEAU I

*Nombre et pourcentage des 230 cultivars étudiés parmi les 6 types de β-amylase libre et nom de certains cultivars appartenant à chacun des différents types*

| Type β-amylasique | I | II | III | IV | V | VI |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $n =$ | 23 | 126 | 6 | 64 | 10 | 1 |
| % | 10 | 54,9 | 2,6 | 27,8 | 4,3 | 0,4 |
| Nom des Cultivars | « Aurora »<br>« Bajio »<br>« Bonanza »<br>« Blue-bird »<br>« Ciano »<br>« Courtot »<br>« F 342/62 »<br>« Frondoso »<br>« Martonwasari »<br>« Mayo »<br>« Norin 4 »<br>« Norin 67 »<br>« Novi-Sad 335 »<br>« Pembina »<br>« Pan W 33 »<br>« Pan W 34 »<br>« Purcari H »<br>« Rannie 12 »<br>« Saric 70 »<br>« Yecora » | « Atlantico »<br>« Bezostaïa »<br>« Chinese sp. »<br>« Florence Au. »<br>« Fertodi »<br>« Harukihari »<br>« Lucas »<br>« Mexipak 65 »<br>« Pt. Quinquin »<br>« Pergamino »<br>« Prelude »<br>« Rex »<br>« Rescue »<br>« San Pastore »<br>« Selkirk »<br>« Sharbati Son. »<br>« Super X »<br>« Sonora 64 »<br>« Siete Cerros »<br>« Thatcher » | « Heine VII »<br>« Heima »<br>« Ibis »<br>« Joss »<br>« Manella »<br>« Novi-Sad 60 » | « Autonomia »<br>« Bocquiau »<br>« Carpo »<br>« Clement »<br>« Ducat »<br>« Huquin »<br>« Maris Hunt. »<br>« Markus »<br>« Orca »<br>« Omar »<br>« Prieur »<br>« Primo »<br>« Rekord »<br>« Rallye »<br>« Starke »<br>« Talent »<br>« Top »<br>« Trio »<br>« Vilmorin 23 »<br>« Wimax » | « Azteca »<br>« Inia »<br>« Pan W 35 »<br>« Tanori » | « Yaktana » |

L'élimination du génome D chez les blés tendres se traduit donc par la disparition du groupe $C_3$. On observe également que les isozymes les plus mobiles de la souche d'*Aegilops squarrosa* utilisée comme témoin — type VII, dont nous parlons au paragraphe suivant — correspondent au groupe $C_3$. Il semble donc que la synthèse des isozymes $C_3$ soit sous la dépendance du génome D.

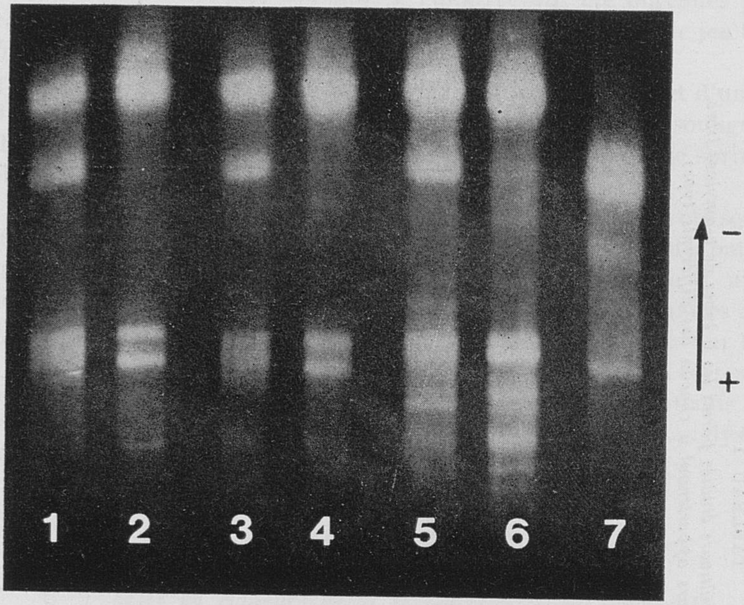



FIG. 3. — *Zymogrammes de β-amylase libre.*

1. « Thatcher » : hexaploïde ABD (type II).
2. « Tétrathatcher » : dérivé tétraploïde AB (type IV).
3. « Rescue » : hexaploïde ABD (type II).
4. « Tétrarescue » : dérivé tétraploïde AB (type IV).
5. « Prelude » : hexaploïde ABD (type II).
6. « Tétraprelude » : dérivé tétraploïde AB (type IV).
7. *Aeg. squarrosa* : (génome D). Souche n° 8 (type VII).

Remarquons toutefois que la réponse n'est pas aussi nette pour « Tétraprelude » dans le diagramme duquel on peut voir des traces d'activité β-amylasique au niveau de $C_3$. KALTSIKES *et al.*, (1968), ayant mis en évidence chez le cultivar « Prelude » l'existence d'une translocation 1D/1A, on peut être tenté de conclure que les gènes responsables de la synthèse de $C_3$ sont précisément localisés sur le segment de chromosome 1D transféré sur le chromosome 1A. Cependant, des remaniements ont également pu se produire pour d'autres chromosomes : il convient donc d'être prudent dans ce genre d'interprétation d'autant plus que d'autres hypothèses peuvent être avancées (par exemple : interactions entre génomes).

— Ensuite nous avons analysé les 39 souches d'*Aegilops squarrosa* dont nous disposions.

La figure 4 donne l'essentiel des résultats obtenus :

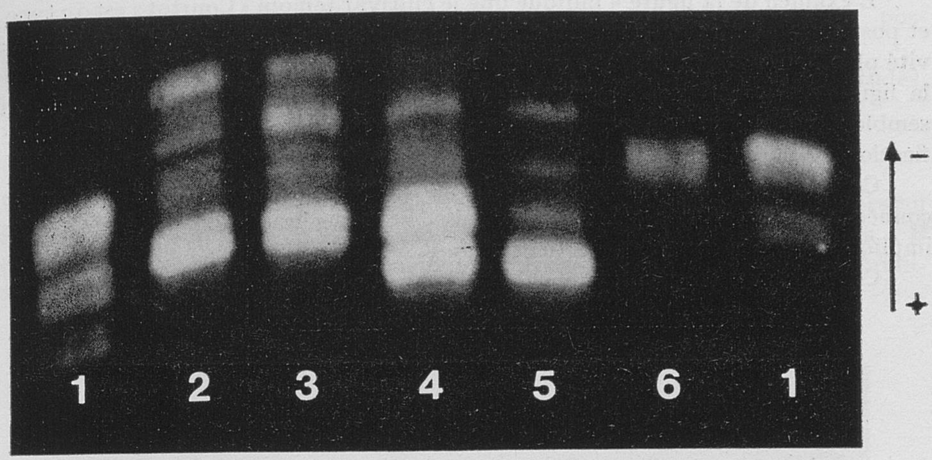



FIG. 4. — *Zymogrammes de β-amylase totale.*

1. Blé tendre : variété « Aurora » (génome ABD) (type I).
2. *Aeg. squarrosa* : souche n° 1 (type VI).
3. *Aeg. squarrosa* : souche n° 20 (type VI).
4. *Aeg. squarrosa* : souche n° 6 (génome DD tétraploïde) (type V).
5. *Aeg. squarrosa* : souche n° 7 (type VII).
6. Blé dur : variété « Bidi 17 » (génome AB) (type IV).

Chez cette espèce, un nouveau type (VII) apparaît; il correspond à la seule présence du groupe $C_3$. Parmi les différentes souches examinées, trois types ont été observés : le type VI est prépondérant (82 p. 100), le type VII est plus rare (15,5 p. 100) et le type V n'a été observé que chez une seule souche (n° 6) d'ailleurs tétraploïde ($2n = 28$; origine Cambridge). On peut constater que le zymogramme de la souche de type V correspond à la somme des deux autres types.

On peut remarquer également la présence de constituants supplémentaires plus mobiles et d'intensité plus faible. D'après un travail antérieur (JOUDRIER, 1974), ceci indique que les grains de ces différentes souches d'*Aegilops squarrosa* ont subi une prégermination (ces grains n'ont fait l'objet d'aucun traitement particulier par ailleurs).

Mais le fait le plus intéressant est que leurs zymogrammes renferment précisément les isozymes $C_2$ et $C_3$, absents chez les blés durs.

## II. — *Mise en évidence du chromosome du génome D responsable de la synthèse du groupe d'isozymes $C_3$ du zymogramme β-amylase*

— Pour aller plus loin dans notre étude, nous nous sommes adressés à un type de matériel susceptible de nous apporter rapidement les éléments recherchés. Ce matériel comprenait les lignées monosomiques du cultivar « Courtot » et les lignées nullitétrasomiques de « Chinese spring ».

a) *Observation des lignées monosomiques de « Courtot »*

L'examen de la figure 5 indique que le cultivar témoin « Courtot » est du type I et possède plusieurs isozymes au niveau de $C_1$, isozymes ayant d'ailleurs une activité plus faible que celles des groupes $C_2$ et $C_3$. Parmi les 21 lignées analysées, seule la lignée monosomique 4D présente des différences par rapport au témoin : il semble y avoir disparition des constituants du groupe $C_3$ mais également une modification de mobilité et du nombre des isozymes au niveau de $C_1$.

Ce matériel permet donc de confirmer la responsabilité du génome D soupçonnée par les résultats précédents et laisse supposer que le chromosome 4 D est impliqué dans la synthèse des isozymes $C_3$.

Cependant, ce résultat ne nous permet pas de conclure : on peut se demander

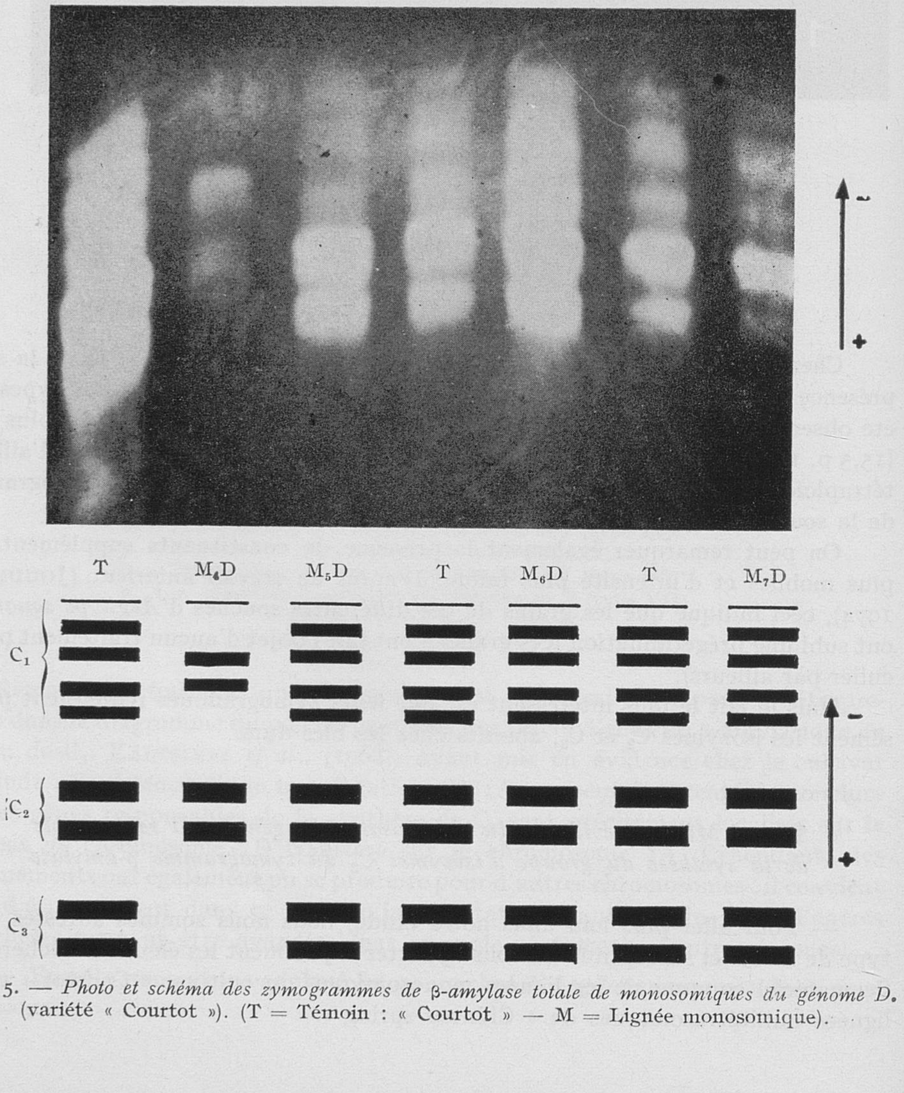



FIG. 5. — *Photo et schéma des zymogrammes de β-amylase totale de monosomiques du génome D.* (variété « Courtot »). (T = Témoin : « Courtot » — M = Lignée monosomique).

si un monosome peut fonctionner seul ou si la paire de chromosomes homologues est nécessaire, des effets de dosage de gènes ou des interactions de même qu'une substitution chromosomique (des vérifications sont en cours) sont, en effet, possibles.

L'étude des lignées nullitétrasomiques nous a permis de lever ces incertitudes.

b) *Examen des lignées nullitétrasomiques de « Chinese spring »*

Les 38 lignées disponibles ont été analysées. Elles sont toutes identiques au témoin « Chinese spring » (type II) exceptées les deux lignées nulli 4 D-tétra 4 B et nulli 4 D-tétra 4 A. La figure 6 donne les résultats obtenus avec la série des nulli-D-tétra B :

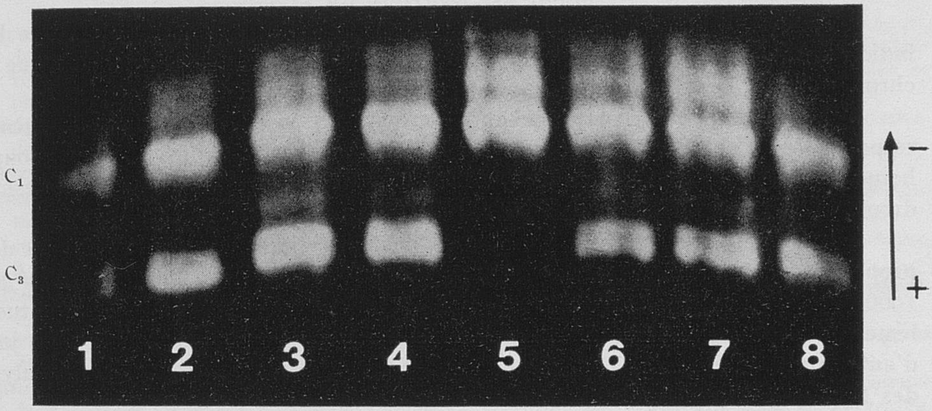



FIG. 6. — *Zymogrammes de β-amylase totale de lignées nullitétrasomiques de « Chinese spring ».*

1. « Chinese spring » (témoin).
2. Lignée Nulli 1 D — Tétra 1 B.
3. Lignée Nulli 2 D — Tétra 2 B.
4. Lignée Nulli 3 D — Tétra 3 B.
5. Lignée Nulli 4 D — Tétra 4 B.
6. Lignée Nulli 5 D — Tétra 5 B.
7. Lignée Nulli 6 D — Tétra 6 B.
8. Lignée Nulli 7 D — Tétra 7 B.

Comme on peut le voir, la lignée nulli 4 D-tétra 4 B se différencie nettement du témoin ainsi que des autres lignées par l'absence des isozymes du groupe $C_3$; le même résultat a été obtenu avec la lignée nulli 4 D-tétra 4 A. L'accumulation des observations effectuées sur les différents matériels utilisés lors de cette étude nous permet donc de penser que le chromosome 4 D est responsable de la synthèse des isozymes β-amylase du groupe $C_3$. Bien que nous n'ayons pas pu examiner les lignées nulli 4 A-tétra 4 B et nulli 4 A-tétra 4 D, nous pouvons cependant, par analogie, avec les résultats de divers auteurs — notamment ceux que nous avons cités en introduction — sur d'autres enzymes, faire l'hypothèse que le groupe homéologue 4 est responsable de la synthèse de la β-amylase. Et, dans ce cadre, du fait que toutes les lignées des séries nulli B-tétra D sont identiques au témoin « Chinese spring », on peut supposer que le chromosome 4 A est impliqué dans la synthèse du groupe $C_1$.

## Conclusions

L'étude électrophorétique de la β-amylase libre d'un grand nombre de cultivars de blé tendre a permis de mettre en évidence 6 types de zymogrammes; parallèlement, l'étude de la β-amylase totale (obtenue après action directe d'un réducteur sur le grain broyé) montre une diminution du nombre des isozymes, les différents types β-amylasique n'étant pas remis en cause.

Par contre les cultivars de blé dur examinés présentent tous le même type de zymogramme (IV), de même que les formes tétraploïdes dérivées d'hexaploïdes. L'analyse de différentes souches d'*Aegilops squarrosa*, tout en mettant en évidence un nouveau type (VII), montre que celles-ci apportent les groupes $C_2$ et $C_3$ dont le blé dur est dépourvu; ces résultats permettent de penser que le génome D serait responsable, au minimum, des isozymes du groupe $C_3$.

L'étude des lignées nullitétrasomiques de « Chinese spring » confirme les indications obtenues sur les lignées monosomiques de « Courtot », à savoir que le chromosome 4 D est impliqué dans la synthèse des isozymes β-amylase $C_3$.

Ces résultats sont à rapprocher de travaux à la suite desquels des gènes responsables d'autres enzymes ont été localisés sur les chromosomes du groupe homéologue 4 du blé : les phosphatases acides et alcalines ainsi que l'alcool déshydrogénase.

D'un point de vue technologique, certaines propriétés de la pâte ainsi que des propriétés meunières sont sous la dépendance du groupe 4 du blé (MORRIS *et al.*, 1966). Des corrélations entre ces caractères et la β-amylase pourront être éventuellement établies, d'une part lorsque nous connaîtrons le nombre de gènes en jeu, d'autre part lorsque nous aurons pu les localiser plus précisément par l'analyse des lignées ditélosomiques.

Il est probable, en effet, que des analyses chromosomiques pourront mettre en évidence des variations au niveau du chromosome 4 D susceptibles d'entraîner des modifications dans la synthèse des isozymes β-amylase du groupe $C_3$. Si tel était le cas, on pourrait alors envisager l'établissement de relations avec certaines propriétés technologiques.

*Reçu pour publication en avril 1976.*

## Remerciements

Nous remercions M^me F. DOSBA, de la Station d'Amélioration des Plantes de Rennes, qui nous a aimablement fourni les différentes souches d'*Aegilops squarrosa*.

## Summary

*Responsability of the D genome on some β-amylase isozymes in the wheat grain*

The aim of this study is to specify the responsability of the D genome in the β-amylase zymogram.

230 cultivars of *Triticum aestivum*, 30 cultivars of *T. durum*, 39 lines of *Aegilops squarrosa*,

3 varieties of AABB tetraploids extracted from three common wheat varieties, 21 monosomics obtained from the cultivar « Courtot » and 38 nullitetrasomic lines were studied.

Polyacrylamide-slab gel electrophoresis (with lactate aluminium buffer, pH = 3,2) permitted the classification of β-amylase zymograms of the *T. aestivum* cv. into 6 distinct types. Three groups of constituents ($C_1$, $C_2$ and $C_3$; fig. 1 and 2) have been defined.

Analyse of *T. durum* cv. have showed that they only possess the $C_1$ group. Examination of the three tetraploid varieties derived from the common wheat cv. showed a disparition of the $C_3$ group (fig. 3). *Aeg. squarrosa* bring isozymes from the $C_2$ or $C_3$ group (fig. 4). So, it is very likely that $C_3$ is under the control of D genome. With monosomic and nullitetrasomic lines, it has been possible to determine which chromosome was involved in the $C_3$ group synthesis. We observe, indeed, a disparition of $C_3$ in the nulli 4 D-tetra 4A and nulli 4 D-tetra 4B lines (fig. 6). So, it is concluded that the chromosome 4 D is implicated in the synthesis of β-amylase isozymes of $C_3$ group.

## Références bibliographiques

AURIAU P., AUTRAN J. C., CHARBONNIER L., DOUSSINAUT G., FEILLET P., GODON B., GRIGNAC P., JOUDRIER P., KOBREHEL K., KOLLER J., ROUSSET M., RIVALLANT S., 1976. Variabilité génétique de la composition des gliadines, gluténines, β-amylases, α-estérases, peroxydases et phosphatases acides du Blé (*Triticum aestivum*). *Ann. Amélior. Plantes*, **26** (1), 51-66.

BERGMAN J. W., 1973. Chromosome location of genes controlling esterase and malate deshydrogenase isozymes in *Triticum*. *Diss. Abst.*, **34**, 1, p. 23 B-24 B.

BERNARD M., CAUDERON Y. (en préparation).

BREWER G. J., SING C. F., SEARS E. R., 1969. Studies of isozymes patterns in nullisomic-tetrasomic combinations of hexaploid wheat. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **64**, 4, 1224-1229.

DAUSSANT J., 1966. Nouveaux résultats de recherches sur les amylases de l'Orge. *Biotechnique*, **3**, mai-juin, 1-6.

HART G. E., 1970. Evidence for triplicate genes for alcohol deshydrogenase in hexaploid wheat. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **66**, 4, 1136-1141.

JOUDRIER P., BOURDET A., 1972. Aspect génétique des activités β-amylasiques dans le grain de Blé. *Ann. Amélior. Plantes*, **22**, 3, 263-269.

JOUDRIER P., 1974. Spécificité génétique de la β-amylase chez *Triticum aestivum*: existence de cinq types variétaux de zymogrammes. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **278**, série D, 1777-1780.

KALTSIKES P. J., EVANS L. E., BUSHUK W., 1968 *a*. Durum-type wheat with high bread-making quality. *Science*, **159**, 211-213.

KALTSIKES P. J., EVANS L. E., LARTER E. N., 1968 *b*. Identification of a chromosome segment controlling bread-making quality in common wheat. *Can. J. Genet. Cytol.*, **10**, 763.

KOBREHEL K., FEILLET P., 1975. Identification of genomes and chromosomes involved in peroxydase synthesis of wheat seeds. *Can. J. Bot.*, **53**, 20, 2336-2344.

LABERGE D. E., CLAYTON I. W., MEREDITH W. O. S., 1967. The effect of thioglycerol on chromatographic and electrophoretic behaviour of barley β-amylases. *Amer. Soc. Brewing. Chemist. Proc.*, p. 18.

MAC INTOSH R. A., 1973. A catalogue of genes symbols for wheat. *Proc. Ith Intern. Wheat Genet. Symp.*, p. 1-45.

MORRIS R., SCHMIDT J. N., MATTERN P. J., JOHNSON V. A., 1966. Chromosome location of genes for flour quality in the wheat variety « Cheyenne » using substitution lines. *Crop Sci.*, **6**, 119-122.

NISHIKAWA K., NABUHARA M., 1971. Genetic studies of α-amylase isozymes in wheat. I. Location of genes and variation in tetra and hexaploid wheat. *Japan. J. Genet.*, **46**, 5, 345-353.

SCHIMPFESSEL L., 1971. Isoenzymes et régulation : quelques réflexions sur la multiplicité des alcools déshydrogénases. *Rev. des Ferment. et des Ind. alim.*, **26**, 2, 63-76.

SEARS E. R., 1952. Homeologues chromosomes in *Triticum aestivum* (ABSTR.). *Genetics*, **37**, 624.

WELSH J. R., HEHN E.R., 1964. The effect of chromosome 1 D on hexaploid wheat flour quality. *Crop Sci.*, **4**, 320-323.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (1), 49-60.

# Étude de la sensibilité variétale du Fraisier à *Phytophthora cactorum* après contamination provoquée

M. PITRAT et Georgette RISSER
avec la collaboration technique de Juliette VAILLEN et Monique RICARD

*Station d'Amélioration des Plantes maraîchères,*
*Centre de Recherches d'Avignon, I.N.R.A.,*
*84140 Montfavet*

## Résumé

Plusieurs variétés de Fraisier ont été contaminées en conditions contrôlées par *Phytophthora cactorum* en utilisant deux techniques : apport de mycélium sur une blessure faite sur le rhizome ou apport d'une suspension de sporocystes sur le cœur de la plante au moment de l'empotage. Nous mettons ainsi en évidence une variation de la sensibilité au cours de l'année avec un minimum en automne-hiver. Les variétés se différencient par la durée et l'intensité de la baisse de sensibilité. Les trente variétés que nous avons étudiées se répartissent de manière continue entre « Merton Dawn » variété la plus résistante et « Tamella » la plus sensible.

La technique de contamination par mycélium est préférable car elle donne des résultats moins fluctuants suivant les années et elle permet une meilleure discrimination entre les variétés que la contamination par sporocyste.

## Introduction

*Phytophthora cactorum* (LEB. et COHN) SCHROET. est un agent pathogène qui possède une gamme de plantes-hôtes étendue. Il est surtout dommageable sur jeunes plantules où il provoque une fonte de semis, sur Pommier où il entraîne une pourriture du collet et sur Fraisier où il peut entraîner la mort des plantes à la plantation ou à la fin de la période de floraison.

Les chercheurs de la Station de Pathologie végétale du Centre de Recherches d'Avignon-Montfavet ont étudié certains aspects de la maladie provoquée par *P. cactorum* sur Fraisier, maladie communément appelée Nécrose ou Flétrissement printanier du Fraisier. Ces études ont porté sur l'expression des symptômes par la plante et sur la biologie du champignon dans le sol pour aboutir à un projet de sélection sanitaire (MOLOT et NOURRISSEAU, 1966, 1970, 1973, 1974; MOLOT,

CLERJEAU et NOURRISSEAU, 1973). *P. cactorum* est un parasite vasculaire qui provoque le flétrissement du plant de Fraisier accompagné d'une nécrose du rhizome. On ne sait pas précisément comment se fait la pénétration du champignon dans la plante. Il semble que l'attaque ait lieu par le mycélium issu de la germination de la zoospore, forme de dissémination.

Nous avons plus particulièrement étudié le problème de la résistance variétale. Dans les conditions naturelles en effet, certaines variétés (ex. : « Robinson ») ne présentent pratiquement jamais de symptômes. Malheureusement, les observations faites au champ sont difficilement interprétables, car les plantes peuvent être contaminées avant la plantation sans qu'aucun symptôme ne permette de le déceler et d'autre part les conditions climatiques jouent un rôle encore mal précisé. Ainsi lors d'essais de plantation échelonnée à partir d'un même lot initial de plantes on observe souvent des pourcentages de plantes flétries très variables selon les dates de plantation. Nous avons donc été amenés à étudier la résistance variétale après inoculation artificielle.

Une première série d'essais d'infections par apport de zoospores ou de sporocystes dans le cœur de la plante nous a permis de mettre en évidence l'effet nocif des fortes températures et des jours longs sur la réussite de l'infection et la nécessité de travailler en conditions contrôlées pour pouvoir comparer les infections faites à diverses périodes de l'année. Les résultats acquis alors après infection provoquée en chambre climatisée, nous ayant fait supposer l'existence d'une variation de la sensibilité des variétés selon les saisons, nous avons voulu étudier ce phénomène en infectant à intervalles réguliers diverses variétés de Fraisier par deux techniques de contamination.

## Matériel et méthodes

Tous les essais d'inoculation ont été réalisés avec le même isolat de *P. cactorum* provenant d'un rhizome de Fraisier naturellement infecté.

Les plantes de Fraisier sont prélevées dans une parcelle de multiplication de pieds-mères traités par la thermothérapie. Dix plantes sont utilisées par traitement dans chaque essai. Des témoins sont indispensables pour pouvoir apprécier l'importance de la contamination naturelle préalable à l'essai. Lorsque les témoins présentent des symptômes de contamination, nous ne tenons pas compte des résultats de cet essai.

Les plantes sont repiquées en pots plastique (diamètre 10 cm) dans un mélange de tourbe et de terreau et placées pendant une semaine après la contamination en chambre climatisée (12 h jour/12 h nuit, 25 °C jour/18 °C nuit, 5-6 000 lux). Elles sont ensuite mises en serre pendant trois semaines après quoi les symptômes sont notés. Le rhizome est coupé et on note l'importance de la nécrose de 0 (rhizome parfaitement blanc, plante apparemment saine) à 5 (rhizome entièrement nécrosé, plante morte).

Après l'inoculation et l'empotage, les plantes ne restent en chambre climatisée qu'une semaine avant d'être mises en serre. Il ne semble cependant pas que le passage en serre pendant 3 semaines modifie beaucoup la réponse des plantes (du

moins de septembre à mai). En effet, pour 4 variétés nous avons systématiquement comparé les résultats d'essais faits dans ces conditions, tous les mois, de septembre à mai, avec les résultats d'essais réalisés en gardant les plantes pendant 4 semaines en chambre climatisée. Le phénomène de la diminution de la sensibilité pendant l'automne est identique. Les notes variétales sont comparables.

Il n'a pas toujours été possible de faire un essai par mois et par variété, par manque de plantes et à cause d'une reprise difficile après empotage surtout en mai, juin, juillet, août.

Deux techniques de contamination ont été utilisées :

1. — *Contamination par sporocyte*

Sur le milieu suivant : bactopeptone 6 g, glucose 20 g, thiamine 2 mg, gélose 15 g, eau 1 000 g, *P. cactorum* forme de très nombreux sporocystes (20 à 30 × $10^6$ par boîte de Pétri), de petite taille (23,5 × 29 µ) et qui germent directement. Après divers essais préliminaires nous avons choisi d'apporter 2 ml d'une suspension à 300 000 sporocystes/ml dans le « cœur » de la plante tout de suite après l'empotage.

2. — *Contamination par mycélium*

Avant l'empotage, on enlève avec un scalpel un petit morceau du rhizome en mettant à nu les vaisseaux. Sur cette blessure, on dépose un disque de 4 mm de diamètre de culture de *P. cactorum* sur milieu L (Messiaen et Lafon, 1970) que l'on maintient en place avec une bandelette de feuille d'aluminium.

## Résultats

1. — *Variations de sensibilité au cours d'une année*

La figure 1 représente les notes de sensibilité de la variété « Cambridge Favourite » contaminée chaque mois pendant une année. Elle montre nettement l'existence d'une moindre sensibilité automnale. La sensibilité qui est élevée en août-septembre, diminue pendant le mois d'octobre pour atteindre un minimum en novembre-décembre. A partir de janvier, elle augmente pour atteindre en mars une valeur maximale qu'elle conservera jusqu'au mois d'août. Ceci est particulièrement net après contamination par mycélium. Après contamination par sporocyste, on note également un minimum de sensibilité en novembre-décembre, mais la diminution et l'augmentation de sensibilité semblent avoir lieu respectivement plus tôt et plus tard qu'avec la contamination par mycélium et la sensibilité maximum est plus faible avec cette technique.

2. — *Différences variétales*

Toutes les variétés que nous avons étudiées présentent une variation de la sensibilité au cours de l'année; cependant, elles diffèrent entre elles par la durée de la moindre sensibilité automnale et par la valeur du minimum atteint. La figure 2

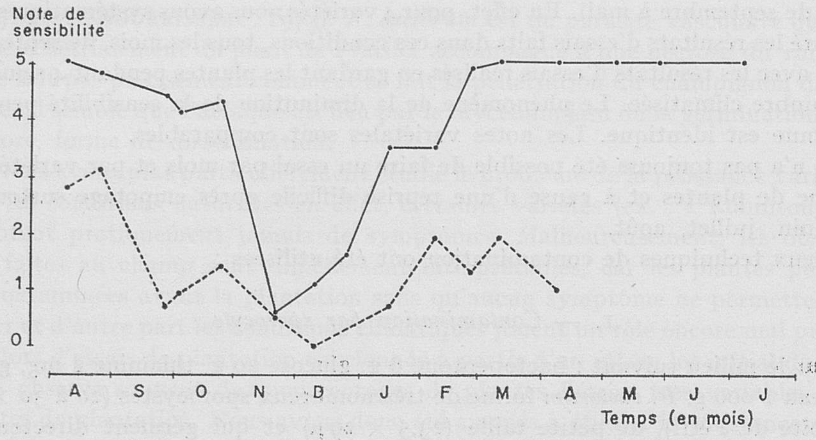



FIG. 1. — *Notes de sensibilité observées sur la variété « Cambridge Favourite » d'août 1974 à juillet 1975 après contamination par mycélium (●———●) ou par sporocyste (●- - - - -●).*

représente à titre d'exemple les notes de sensibilité de trois variétés pendant deux années. Pour « Tamella », la note de sensibilité après infection par mycélium ne descend guère au-dessous de 4 alors que pour « Merton Dawn » la note reste inférieure à 1 pendant plusieurs mois. En revanche, il semble que toutes les variétés soient très sensibles pendant l'été.

La représentation graphique de la sensibilité variétale est un mode de représentation relativement compliqué. On peut se demander si la moyenne des notes

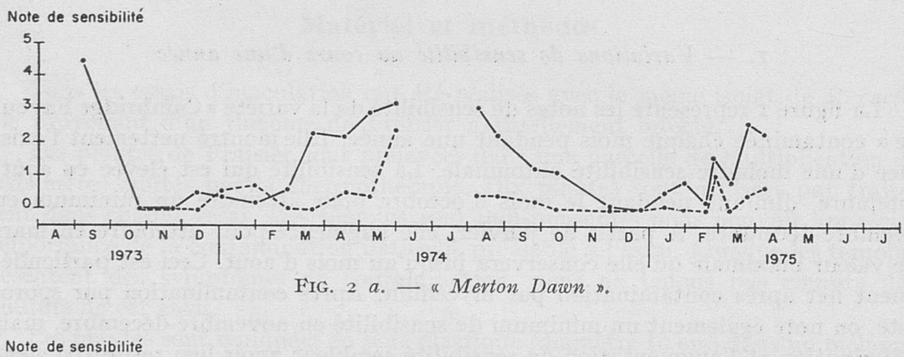



FIG. 2 *a.* — *« Merton Dawn ».*

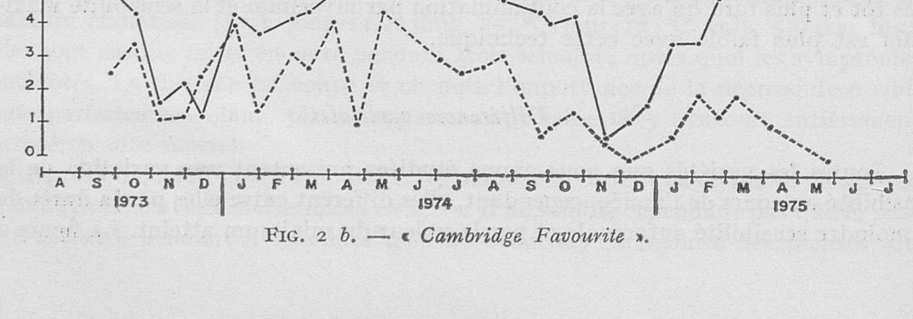



FIG. 2 *b.* — *« Cambridge Favourite ».*

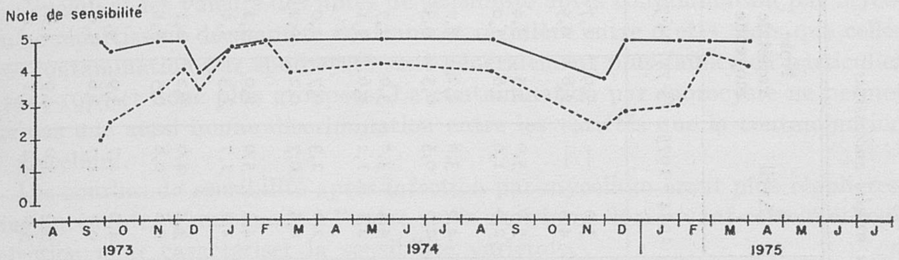



FIG. 2 *c*. — « *Tamella* ».

FIG. 2. — *Sensibilité de 3 variétés de Fraisier pendant 2 années (d'août 1973 à juillet 1975) après contamination par mycélium (•——•) ou par sporocyste (•------•)*

mensuelles d'octobre à avril ne permettrait pas une évaluation approximative suffisante de la sensibilité variétale. Nous avons donc reporté dans le tableau 1 les notes de sensibilité variétale moyenne obtenues deux années successives après contamination par mycélium ou par sporocyste de 9 variétés. Les notes les plus faibles caractérisent bien les variétés les plus résistantes (« Merton Dawn » par exemple), les notes les plus fortes les variétés les plus sensibles (« Tamella » par exemple).

### 3. — *Variations entre années*

On peut étudier la liaison entre les notes observées en utilisant le coefficient $r_s$ de SPEARMAN qui peut être employé même lorsque les variables ne sont pas normales (SIEGEL, 1956). Les notes variétales moyennes obtenues au cours de deux années (tabl. 1) sont corrélées ($r_s = 0{,}79$ pour les contaminations par mycélium; $r_s = 0{,}69$ pour les contaminations par sporocyste). L'observation du tableau 1 montre toutefois que la variété « Belrubi » a un comportement aberrant et inexpliqué : sa sensibilité est beaucoup plus faible en 1974-75 qu'en 1973-74. Si on élimine cette variété les coefficients de corrélation précédemment calculés deviennent égaux à 0,99 et 0,79.

De même, les valeurs mensuelles de 1973-1974 et celles de 1974-1975 pour l'ensemble des variétés sont corrélées : $r_s = 0{,}83$ pour les contaminations par mycélium et $r_s = 0{,}63$ pour les contaminations par sporocyste (respectivement $r_s = 0{,}87$ et $r_s = 0{,}62$ en excluant la variété « Belrubi »).

L'observation du tableau 1 montre que les notes obtenues après contamination par mycélium ne sont pas différentes pour les deux années. En revanche, après contamination par sporocyste, les notes de sensibilité sont systématiquement plus élevées en 1973-1974 qu'en 1974-1975.

### 4. — *Comparaison des deux techniques de contamination*

Les notes variétales moyennes après infection par mycélium ou par sporocyste sont corrélées ($r_s = 0{,}92$ pour 1973-74 et $r_s = 0{,}91$ pour 1974-1975) ainsi que les valeurs mensuelles ($r_s = 0{,}79$ pour 1973-1974 et $r_s = 0{,}79$ pour 1974-1975).

TABLEAU I

*Notes de sensibilité obtenues après contamination par mycélium ou par sporocyste de 9 variétés de Fraisier, 2 années successives*

| Variétés | | Octobre | | Novembre | | Décembre | | Janvier | | Février | | Mars | | Avril | | Note variétale moyenne | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1973 | 1974 | 1973 | 1974 | 1973 | 1974 | 1974 | 1975 | 1974 | 1975 | 1974 | 1975 | 1974 | 1975 | 73-74 | 74-75 |
| « Belrubi » . . . . . . . . | Myc. | — | 2,3 | 3,3 | 2,4 | 3,5 | 1,4 | — | 0,8 | 2,7 | 0,9 | 5,0 | 2,3 | 5,0 | — | 3,9 | 1,7 |
| | Spor. | — | 0,2 | 1,8 | 0,6 | 1,2 | 0 | — | 0 | 2,7 | 0,4 | 4,0 | 1,7 | 4,5 | — | 2,8 | 0,5 |
| « Cambridge Favourite » . . | Myc. | 4,3 | 4,2 | 1,9 | 0,6 | 1,2 | 1,4 | 4,3 | 3,5 | 3,7 | 4,2 | 4,3 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 3,5 | 3,4 |
| | Spor. | 3,4 | 1,2 | 1,2 | 0,5 | 2,4 | 0 | 4,0 | 0,7 | 1,4 | 1,6 | 2,9 | 1,9 | 2,6 | 1,0 | 2,6 | 1,0 |
| « Delsto » . . . . . . . . | Myc. | 1,3 | 1,2 | 1,1 | 1,1 | 1,5 | 0,5 | 3,0 | 2,2 | 1,8 | 3,0 | — | 3,6 | 4,6 | 3,8 | 2,2 | 2,2 |
| | Spor. | 0,2 | 0,2 | 0,3 | 0,6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,2 | — | 0,8 | 2,6 | 0,5 | 0,5 | 0,3 |
| « Guardian » . . . . . . . | Myc. | — | 3,9 | 2,3 | 0,7 | 2,2 | 0,4 | 2,0 | 3,0 | 3,3 | 3,2 | 3,6 | 3,6 | 4,4 | 3,8 | 3,0 | 2,7 |
| | Spor. | — | 2,1 | 0,7 | 0,2 | 2,9 | 0 | 1,0 | 0 | 1,5 | 2,6 | 1,2 | 1,6 | 2,1 | 1,2 | 1,6 | 1,1 |
| « Merton Dawn » . . . . . | Myc. | 0 | 1,1 | 0 | 0,1 | 0,5 | 0 | 0,4 | 0,7 | 0,2 | 0,9 | 1,5 | 1,7 | 2,2 | 2,3 | 0,7 | 1,0 |
| | Spor. | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,5 | 0,1 | 0,7 | 0,5 | 0 | 0,2 | 0,5 | 0,7 | 0,2 | 0,2 |
| « Montrose » . . . . . . . | Myc. | 0,8 | 0,3 | 0 | 1,5 | 0 | — | 2,2 | 2,3 | 3,0 | 0,7 | 3,5 | 3,9 | 4,5 | 5,0 | 2,0 | 2,2 |
| | Spor. | 0,5 | 0,2 | 0,4 | 1,9 | 1,2 | — | 1,7 | 0,8 | 1,6 | 0,2 | 2,1 | 1,5 | 1,8 | 1,7 | 1,3 | 1,1 |
| « Robinson » . . . . . . . | Myc. | 1,5 | 2,2 | 1,0 | 0 | 0,7 | 0 | 0,2 | 0 | 0,1 | — | 1,4 | 0,4 | 3,3 | 4,6 | 1,2 | 1,2 |
| | Spor. | 0 | 0 | 0,1 | 0 | 0,7 | 0 | 0 | 0 | 0,8 | — | 0,9 | 0 | 0,8 | 0,8 | 0,5 | 0,1 |
| « Surprise » . . . . . . . | Myc. | 3,4 | 3,5 | 2,7 | 4,3 | 3,3 | 3,4 | 4,1 | 3,6 | 4,5 | 5,0 | 4,6 | — | 4,9 | 4,7 | 3,9 | 4,1 |
| | Spor. | 1,2 | 0,8 | 1,3 | 1,4 | 1,9 | 2,6 | 1,8 | 0 | 2,3 | 4,6 | 2,0 | — | 0,7 | 1,7 | 1,6 | 1,9 |
| « Tamella » . . . . . . . | Myc. | 4,7 | — | 5,0 | 3,8 | 4,5 | 5,0 | 4,8 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | — | 5,0 | 5,0 | 4,9 | 4,8 |
| | Spor. | 2,5 | — | 3,4 | 2,3 | 3,8 | 2,8 | 4,8 | 3,0 | 5,0 | 4,6 | 4,0 | — | 5,0 | 4,2 | 4,1 | 3,4 |

Cependant les valeurs des notes de sensibilité après contamination par mycélium se répartissent de manière continue et régulière entre 0 et 5 alors que celles après contamination par sporocyste sont généralement plus faibles en particulier en 1974-1975 et donc plus groupées. La contamination par sporocyste ne permet donc pas une aussi bonne discrimination entre les variétés que la contamination par mycélium.

Les courbes de sensibilité après infection par mycélium étant plus régulières, moins fluctuantes d'une année à l'autre, nous choisirons dorénavant cette méthode d'infection pour caractériser la sensibilité variétale.

### 5. — *Comportement des plantes témoins*

Nous ne disposons pas d'observations nombreuses et quantitatives sur les différences variétales en conditions naturelles de contamination. Nous pouvons cependant essayer de nous fonder sur les symptômes observés sur les témoins. Lorsque les témoins empotés en même temps que les plantes contaminées présentent aussi des symptômes d'infection par *P. cactorum* nous ne tenons pas compte des résultats de cet essai. Cependant, les notes de sensibilité des témoins peuvent donner une indication sur la contamination naturelle. Ainsi le tableau 2 récapitulant les notes moyennes de sensibilité des témoins fait apparaître des différences variétales. Les deux variétés les plus affectées (« Surprise des Halles » et « Tamella ») sont les plus sensibles en contamination provoquée. Les deux variétés dont les témoins ont toujours eu la note 0 (« Merton Dawn » et « Robinson ») sont aussi les plus résistantes après contamination provoquée. Ces résultats sont évidemment très fragmentaires d'autant plus que nous évitons de mettre les pieds-mères pour la multiplication dans des parcelles que nous savons contaminées. Ils montrent cependant une concordance entre les sensibilités variétales en contamination naturelle ou provoquée.

TABLEAU 2

*Notes moyennes* (calculées d'octobre à avril) *observées sur les témoins*

| | 1973-74 | 1974-75 | Moyenne |
|---|---|---|---|
| « Belrubi » | 0,55 | 0,09 | 0,33 |
| « Cambridge Favourite » | 0,07 | 0,00 | 0,04 |
| « Delsto » | 0,00 | 0,10 | 0,06 |
| « Guardian » | 0,00 | 0,04 | 0,02 |
| « Merton Dawn » | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| « Montrose » | 0,08 | 0,18 | 0,13 |
| « Robinson » | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| « Surprise des Halles » | 0,47 | 0,30 | 0,40 |
| « Tamella » | 0,43 | 0,33 | 0,39 |
| Moyenne | 0,20 | 0,11 | 0,15 |

### 6. — *Différences de sensibilité variétale, mise au point d'un test simplifié utilisable au cours d'une sélection*

Ainsi que nous l'avons montré le résultat d'une série d'inoculations par apport de mycélium sur une blessure du rhizome d'octobre à avril, permet de caractériser la sensibilité intrinsèque des variétés. Nous disposons des résultats (toutes années confondues) pour 30 variétés. Le tableau 3 rapporte les notes moyennes de sensibilité de ces 30 variétés. De la note la plus faible (« Merton Dawn ») à la plus forte (« Tamella ») la gradation est continue et ne permet pas de faire des groupes bien distincts de sensibilité.

Cette méthode d'étude de la sensibilité variétale est longue, nécessite beaucoup de plants et de place en pièces climatisées. On voit difficilement son utilisation en cours de sélection sur un nombre important de clones. Or, lorsqu'on exa-

TABLEAU 3

*Note moyenne de sensibilité après infection par mycélium de 30 variétés* (toutes années confondues)

| Variétés | Note moyenne de sensibilité | Note de sensibilité du 15-1 au 28-2 |
|---|---|---|
| « Tamella » | 4,6 | 4,8 |
| « Souvenir de Ch. Machiroux » | 4,5 | 4,3 |
| « Tardive de Léopold » | 4,3 | 5,0 |
| « Fanil » | 4,1 | 4,1 |
| « Litessa » | 3,9 | 4,1 |
| « Surprise des Halles » | 3,5 | 4,3 |
| « Cambridge Favourite » | 3,4 | 3,9 |
| « Belrubi » | 3,1 | 2,5 |
| « Ladette » | 3,0 | 3,2 |
| « Climax » | 2,9 | 2,7 |
| « Appelever » | 2,6 | 2,5 |
| « Gorella » | 2,6 | 2,3 |
| « Gigana » | 2,5 | 3,2 |
| « Vesper » | 2,3 | 3,3 |
| « Marmion » | 2,3 | 1,8 |
| « Fructana » | 2,3 | 1,6 |
| « Marie France » | 2,3 | 1,1 |
| « Delsto » | 2,2 | 2,4 |
| « Guardian » | 2,1 | 2,5 |
| « Aliso » | 2,1 | 2,3 |
| « Montrose » | 2,1 | 1,9 |
| « Sequoia » | 2,1 | 1,9 |
| « Calebasse » | 2,1 | 1,5 |
| « Pocahontas » | 1,7 | 1,6 |
| « Pantagruella » | 1,7 | 1,6 |
| « Grande » | 1,7 | 0,7 |
| « Sengana » | 1,4 | 1,1 |
| « Redgauntlet » | 1,3 | 0,7 |
| « Robinson » | 1,2 | 0,4 |
| « Merton Dawn » | 0,9 | 0,7 |

mine l'ensemble des résultats obtenus, on s'aperçoit que la note de sensibilité après infection pendant la période du 15 janvier au 1er mars est étroitement corrélée à la note moyenne des valeurs obtenues d'octobre à avril (tabl. 3, coefficient de corrélation : $r_s = 0{,}90$). Ceci est d'autant plus intéressant qu'il s'agit de la période où les conditions naturelles de la serre se rapprochent le plus des conditions choisies pour nos tests. Deux tests réalisés en serre pendant cette période devraient pouvoir permettre l'élimination précoce des clones les plus sensibles.

## Discussion

### 1. — *Critique des conditions expérimentales*

Notre méthode d'étude de la sensibilité variétale est imparfaite. Pour améliorer la qualité et la régularité des résultats, il serait souhaitable :

— d'augmenter le nombre de plantes. Nous utilisons 10 plantes par répétition ce qui est peu et doit être une des causes de la très forte fluctuation observée;

— de mieux exploiter le système de notation. La note de sensibilité utilisée est critiquable : en effet, une même note moyenne de 2,0 par exemple peut correspondre aussi bien à 10 plantes notées 2,0 qu'à 6 plantes notées 0 et 4 plantes notées 5,0. Nous perdons donc certainement une partie de l'information en ne retenant que la note moyenne.

D'autre part, la notation est faite 1 mois après la contamination mais il y a des plantes qui flétrissent 1, 2 ou 3 semaines après la contamination et toutes ces plantes seront notées 5. Des plantes qui ont la note 5 peuvent donc présenter une sensibilité différente et nous devrions peut-être étaler davantage l'échelle de notation.

### 2. — *Variation de la sensibilité du Fraisier en fonction de son état physiologique*

Nous observons une variation de la sensibilité du Fraisier en fonction de la date d'infection. Il y a un minimum de sensibilité en automne. Les conditions de milieu après contamination étant à peu près constantes et l'inoculum préparé dans des conditions standard, nous pouvons en conclure que la sensibilité du Fraisier dépend de son état physiologique. VAN DER SCHEER (1973) trouve également sur Fraisier une fluctuation de la sensibilité d'un essai à l'autre. D'après les dates qu'il indique pour les différents essais, ses résultats sont compatibles avec les nôtres.

De telles variations de sensibilité ont déjà été décrites sur plusieurs couples hôte-parasite. Ainsi, le Pommier est plus sensible en mars-avril-mai à *P. cactorum* et en octobre-novembre-décembre à *P. syringae* (SEWELL et WILSON, 1973); le Prunier est plus sensible à *Cytospora leucostoma* en été et à *C. cincta* au printemps et à l'automne (BERTRAND et ENGLISH, 1976).

Chez le Fraisier, le raccourcissement de la longueur du jour provoque l'initiation à la floraison et l'entrée en dormance. Ces deux phénomènes se font parallèlement à la diminution de la sensibilité en automne. Cependant :

— les variétés remontantes c'est-à-dire toujours initiées à la floraison présentent les mêmes variations de sensibilité que les variétés non remontantes;

— « Tamella » et « Redgaundlet » sont deux variétés à forte dormance or l'une est très sensible et l'autre peu (tabl. 3). « Cambridge Favourite » et « Merton Dawn » qui sont des variétés tout à fait comparables pour la dormande, l'époque à laquelle elles fleurissent et fructifient, ont des sensibilités très différentes. Il ne semble donc pas qu'il y ait de relation directe entre moindre sensibilité à *P. cactorum* et initiation à la floraison ou importance de la dormance.

Par ailleurs, il faut rappeler que tous nos essais sont réalisés sur plantes arrachées et empotées le jour même, ce qui entraîne normalement une émission importante de racines nouvelles. Or, on constate que les périodes de forte sensibilité (septembre, avril, mai) correspondent aux périodes où la reprise des plantes témoins est la plus difficile. Il se peut que la sensibilité soit liée à l'activité racinaire.

### 3. — *Détermination des périodes de contamination naturelle*

La technique d'inoculation par mycélium est intéressante car elle permet de mettre en évidence des différences variétales et une évolution de la sensibilité dans le temps. Elle a l'inconvénient de nous éloigner de ce qui doit se passer dans les conditions naturelles.

Nos essais ont montré que les variétés différaient surtout par leur sensibilité pendant la période automnale et hivernale mais que de mai à septembre elles paraissaient toutes sensibles. Nous pensons que cette différence de sensibilité a une importance pratique puisque nous constatons que les variétés ayant une longue période de résistance sont celles qui ont la réputation d'être résistantes dans les conditions de cultures. Nous pouvons supposer que la période de contamination naturelle n'est pas la période estivale mais jusqu'ici nous n'en avons aucune preuve. Ainsi, si nous avons montré que les fortes températures et les jours longs empêchaient l'apparition de symptômes après inoculation par sporocyste, les travaux de divers chercheurs laissent supposer que l'activité de *P. cactorum* est nulle ou faible pendant l'hiver. MOLOT et NOURRISSEAU (1973*b*) en utilisant des fraises comme piège, SEWELL, WILSON et DAKWA (1974) en utilisant des pommes ne peuvent pas isoler *P. cactorum* du sol pendant l'hiver; cependant BANIHASHEMI et MITCHELL (1975) peuvent mettre le champignon en évidence toute l'année en repiquant des plantules de Carthame dans le sol à tester.

Des essais sont donc nécessaires pour déterminer cette période de contamination naturelle.

## Conclusions

Bien que très imparfaite, la méthode de contamination par apport de mycélium de *P. cactorum* sur une blessure du rhizome nous a permis de mettre en évidence chez toutes les variétés de Fraisier une baisse de la sensibilité pendant l'automne et l'hiver. Il existe des différences variétales qui se traduisent par la durée de cette époque de moindre sensibilité et la valeur minimale atteinte. Les 30 variétés

étudiées se répartissent de façon continue entre « Merton Dawn » la plus résistante et « Tamella » la plus sensible. Une contamination provoquée en février doit permettre de trier des clones en cours de sélection.

Certains points restent encore à préciser pour savoir si les différences de sensibilité variétales mises en évidence sont exploitables dans les conditions normales de culture. Nous ne savons pas quand *P. cactorum* est actif dans le sol et quand a lieu la contamination du plant de Fraisier dans les conditions naturelles. Nous manquons de données sur la sensibilité en juin, juillet, août, car, à cette époque, nous ne disposons pas de beaucoup de plants et la reprise est difficile; or c'est à cette époque qu'ont lieu les plantations de Fraisier.

*Reçu pour publication en avril 1976.*

## Remerciements

Nous remercions MM. L. DECOURTYE et B. JOUAN pour les remarques qu'ils ont effectuées sur ce travail. Elles ont aidé à sa rédaction définitive.

## Summary

*Susceptibility of Strawberry to* Phytophthora cactorum *in artificial inoculation*

Several varieties of Strawberry have been inoculated in controlled conditions with *Phytophthora cactorum* using two methods: in putting a piece of mycelium on a wound made on the rhizome or in pouring a suspension of sporangia on the heart of the plant on potting.

We show up a variation of suceptibility during the year with a minimum in autumn-winter. The varieties appear different by the duration and the intensity of the decrease of susceptibility. The thirty varieties we have studied are distributed continuously between " Merton Dawn " the most resistant one and « Tamella » the most susceptible.

The inoculation with mycelium is preferable because it gives less fluctuating results by the years and it allows a better differentiation between the varieties than the inoculation with sporangia.

## Références bibliographiques

BANIHASHEMI Z., MITCHELL J. E., 1975. Use of safflower seedlings for the detection and isolation of *Phytophthora cactorum* from soil and its application to population studies. *Phytopathology*, **65**, 1424-1430.

BERTRAND P. F., ENGLISH H., 1976. Virulence and seasonal activity of *Cytospora leucostoma* and *C. cincta* in French prune trees in California. *Plant Dis. Rep.*, **60**, 106-110.

MESSIAEN C. M., LAFON R., 1970. *Les maladies des plantes maraîchères*. 2e éd., Inst. nat. Rech. agron., Paris, 388 p.

MOLOT P. M., CLERJEAU M., NOURRISSEAU J. G., 1973. Comportement du plant de Fraisier contaminé par le *Phytophthora cactorum* après repiquage sur sol désinfecté au bromure de méthyle. *Rev. Zool. agric. Pathol. vég.*, **4**, 133-136.

MOLOT P. M., NOURRISSEAU J. G., 1966. Dessèchement printanier du Fraisier provoqué par *Phytophthora cactorum*. *C. R. Acad. Agric. France*, **52**, 1001-1005.

MOLOT P. M., NOURRISSEAU J. G., 1970. Recherches sur la nécrose du Fraisier provoquée par *Phytophthora cactorum* (L. et C.) SCHROET. I. État actuel des connaissances. *Ann. Phytopathol.*, **2**, 117-137.

MOLOT P. M., NOURRISSEAU J. G., 1973 *a*. Influence de l'ombrage sur l'expression des symptômes de *Phytophthora cactorum* par le Fraisier. *Rev. Zool. agric. Pathol. vég.*, **4**, 129-132.

MOLOT P. M., NOURRISSEAU J. G., 1973 *b*. Détection par piégeage des *Phytophthora* dans le sol. *Ann. Phytopathol.*, **5**, 308-309.

MOLOT P. M., NOURRISSEAU J. G., 1974. Influence de quelques substances de croissance sur la sensibilité du Fraisier aux attaques de *Phytophthora cactorum*. *Fruits*, **29**, 697-702.

SIEGEL S., 1956. *Non parametric statistics for the behavorial sciences*. McGraw-Hill, New York, 312 p.

SEWELL G. W. F., WILSON J. F., 1973. *Phytophthora* collar rot of apple: seasonal effects on infection and disease development. *Ann. appl. Biol.*, **74**, 149-158.

SEWELL G. W. F., WILSON J. F., DAKWA J. T., 1974. Seasonal variations in the activity in soil of *Phytophthora cactorum*, *P. syringae* and *P. citricola* in relation to collar rot disease of apple. *Ann. appl. Biol.*, **76**, 179-186.

VAN DER SCHEER H. A. T., 1973. Susceptibility of Strawberry to isolates of *Phytophthora cactorum* and *Phytophthora citricola*. *Med. Fac. Landbouwwet. Rijksuniv. Gent.*, **38**, 1407-1415.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (1), 61-73.

# Réflexion pour une stratégie de l'amélioration de la Vigne (1)

M. RIVES (2)

*Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A., 11, rue Jean-Nicot, 75007 Paris*

## Résumé

La recombinaison est le seul facteur de l'amélioration des Plantes qui puisse être influencé quand on cherche à créer des variétés chez les plantes à multiplication végétative comme la Vigne. La longueur des générations et les restrictions sur les effectifs empêchent de jouer sur ces facteurs.

La corrélation phénotype-génotype est *a priori* trop incertaine pour permettre un « choix des géniteurs » sérieux.

Le schéma d'HANSON (1959 *a*, *b*, *c*, *d*) prévoit l'intercroisement pendant quelques générations à partir d'un certain nombre de génotypes parentaux.

On peut augmenter l'efficacité de ce plan de croisements pyramidaux en faisant suivre le diallèle initial par des générations d'intercroisements où l'on maximise l'hétérogénéité génétique entre les partenaires en tenant compte de leur ascendance et en pratiquant une sélection disruptive pour les traits sans importance pour l'objectif poursuivi.

L'existence probable de limitations génétiques récessives de la recombinaison et la nécessité de briser les linkats rendent souhaitable l'intercalation de générations de consanguinité dans le schéma.

Un dispositif de cette nature a été réalisé pour la Vigne et est en cours depuis 1972.

Si on analyse logiquement le processus de la création de variétés par croisements, suivis ou non de générations d'autofécondation, on arrive à la conclusion que toute amélioration par la voie sexuée revient à utiliser des *méioses* pour obtenir des *gamètes* dont la réunion crée des *génotypes* nouveaux.

Grâce au mécanisme du crossing-over, la conséquence principale de la méiose est la *recombinaison* des éléments de l'information génétique, pour former chez les gamètes des combinaisons géniques nouvelles, différentes de celles qui étaient présentes sur les chromosomes des parents, mais formées à partir de leurs éléments.

La valeur des génotypes obtenus par la réunion de ces gamètes est la résul-

(1) Communication présentée au 1er Symposium de Génétique de la Vigne, Geilweilerhof 1973.
(2) Adresse en 1973 : Station de Recherches de Viticulture I.N.R.A., 33140 Pont-de-la-Maye.

tante des effets des gènes qu'ils portent. Depuis FISHER (1918), on distingue classiquement trois catégories dans ces effets : les effets *additifs* des allèles d'un même gène, les effets de *dominance* entre les allèles d'un même gène, et les effets d'*épistasie* entre allèles de gènes différents.

Cela suffit pour nos besoins, et nous négligerons les interactions génotype × milieu, de même que la subdivision des interactions d'épistasie en additif × additif, additif × dominance, etc...

La possibilité pratique d'utiliser la valeur des génotypes suivant qu'elle provient du premier, des deux premiers ou des trois types d'effets dépend étroitement du système de reproduction utilisé, chez l'espèce que l'on améliore, pour obtenir les semences ou les plants employés par l'agriculteur.

En première approximation, on peut dire que, de la variation totale apparue à la suite d'un croisement, ou existant dans une population allogame, seule la part additive pourra être mise à profit avec certitude par le sélectionneur d'une espèce autogame reproduite par la graine, seules les deux premières parts le seront pour les espèces allogames, seules les plantes à multiplication végétative peuvent espérer tirer parti des trois types d'effets. Ce n'est bien entendu qu'une approximation, mais c'est une opinion tenace chez les sélectionneurs.

Notre propos est de montrer que les effets du type épistatique ont toujours été sous-estimés et que l'amélioration de la Vigne doit se méfier de l'épistasie, mais aussi que son premier but doit être d'apprendre à l'utiliser, et que son deuxième objectif doit être basé sur le postulat que maximiser la recombinaison et son efficacité revient à maximiser la variabilité induite, donc la probabilité de réussir, (à trouver le génotype idéal!).

Par ailleurs, en plus de la méiose et de la fécondation, un certain nombre de facteurs interviennent pour influencer cette probabilité et sont plus ou moins sous le contrôle du sélectionneur.

Dans l'ordre chronologique, il s'agit du choix des géniteurs, du nombre de descendants observés et de la précision de cette observation.

Pour nous, le nombre de descendants observés est le plus souvent limité par des contingences purement matérielles : de place disponible, de travail disponible pour l'hybridation et pour l'entretien et la surveillance des cultures de descendances, etc... Chez la Vigne, ce nombre est généralement faible et pratiquement impossible à accroître, d'autant plus que, toutes choses égales par ailleurs, l'efficacité n'augmente au mieux que comme la racine carrée de l'effectif. D'autre part, le travail sur un grand nombre de génotypes n'est efficace que dans la mesure où la précision des observations n'est pas sacrifiée à leur nombre. On démontre en effet que, à moyens constants, il y a un optimum de l'effectif, au-delà duquel il est illusoire d'aller, car la diminution de la précision des observations due au trop grand nombre d'individus à observer, n'est plus compensée par l'augmentation d'efficacité qui résulte de celle de l'effectif et l'on a souvent intérêt à éliminer au hasard une proportion de l'effectif initial avant toute sélection (FINNEY, 1958). C'est particulièrement vrai chez la Vigne où la variabilité naturelle est élevée, de même que la part de variation gênante due aux interactions génotype × milieu, donc où une grande précision est nécessaire si on veut travailler avec des héritabilités raisonnablement élevées.

En ce qui concerne le choix des géniteurs, le système de reproduction normal de la Vigne cultivée, qui nous sera favorable pour l'exploitation de l'épistasie, nous est très défavorable; car, s'il nous permet une bonne observation de la valeur phénotypique des géniteurs, il nous prive de toute indication sur la transmission héréditaire de cette valeur par la voie sexuée.

Or, le système de reproduction naturel de la Vigne sauvage, qui est dioïque, est essentiellement allogame. De plus, il fonctionne avec des taux de sélection énormes : il suffit de comparer la population de vignes adultes d'un bois de l'Oklahoma, avec une vigne tous les dix arbres, au tapis dense et continu des semis qui couvre le sol, et de multiplier cela par la longévité de chaque vigne qui atteint l'âge adulte; il suffit de voir comment sont éliminés les hybrides de *V. rupestris* et *V. cinerea* dans les zones de contact de leurs aires (RIVES, 1962) où ils sont nombreux comme semis et totalement absents comme adultes, pour comprendre que seuls les génotypes exceptionnellement doués peuvent subsister. Ce système de reproduction a sans doute été celui qui a régi la Vigne jusqu'à il y a quelques générations : toute la structure du système génétique de l'espèce est donc encore conditionnée par lui. Or, il ne peut que favoriser l'épistasie comme système génétique d'ajustement au milieu.

On rapprochera ces observations sur la Vigne de considérations ou de constatations plus générales.

Une source de génotypes exceptionnels est évidemment la superdominance, utilisée par certaines hypothèses pour expliquer l'hétérosis. Or JINKS (1955) a montré, par les techniques classiques d'étude de l'hérédité quantitative dans les croisements diallèles, et grâce à une technique particulière qui permet de distinguer entre superdominance et épistasie, que, toutes les fois qu'on détectait la superdominance, on détectait aussi l'épistasie, et que l'élimination des croisements qui présentaient de l'épistasie supprimait le plus souvent ou en tous cas faisait diminuer la superdominance.

SPIESS et ALLEN (1961) montrent que, dans la variabilité libérée par la recombinaison chez la Drosophile, la variance non-additive (dominance plus épistasie) est toujours très supérieure à la variance additive.

FASOULAS et ALLARD (1962) ont trouvé chez l'Orge, espèce pourtant autogame, que la variation due à l'épistasie rend compte de 32 p. 100 de la variation génétique totale, pour 65 p. 100 à la variation additive et 10 p. 100 seulement à la variation due à la dominance.

Ces constatations prennent encore plus de relief si on les confronte avec les résultats de JANA (1971) qui ont montré, sur des modèles oligogéniques, que les techniques de génétique biométrique du type qu'a utilisé JINKS (1955) *sous-estiment systématiquement* l'importance de la part due à l'épistasie dans la variation génétique totale.

Il n'est donc pas étonnant que DEMARLY (1972) insiste sur l'importance de l'épistasie dans le contrôle et le déterminisme des *aptitudes spécifiques à la combinaison*.

On a donc quelques raisons de penser que les génotypes que représentent les géniteurs potentiels que sont nos variétés de vignes, ont été triés par une sélection humaine, inconsciente certes, mais certainement très sévère, dans un matériel qui

tire son origine de populations où le système de reproduction favorisait l'épistasie. Cela veut dire que la connaissance phénotypique que nous en avons risque de masquer une ignorance dramatique du génotype et surtout de son aptitude à donner des gamètes qui transmettent à leurs descendants leurs caractères favorables ou y composent des combinaisons épistatiques intéressantes.

Le contrôle de la plupart des facteurs qui permettraient d'augmenter nos chances de réussite échappe donc plus ou moins à notre volonté : choix des géniteurs, effectif des populations, précision de l'observation.

Il nous en reste cependant au moins deux que nous pouvons essayer de mettre à profit, si nous savons organiser notre travail pour en maximiser l'efficacité. Je veux parler de la recombinaison et de l'épistasie elle-même.

La recombinaison est le facteur primordial de l'entretien de la variabilité. Dans ce sens, on peut définir une efficacité de la recombinaison au niveau chromosomique : tout arrangement nouveau, qui combine ensemble sur le même chromosome des allèles de gènes différents qui n'étaient pas réunis auparavant par le linkage, fournit un élément de variabilité accrue supplémentaire. C'est le phénomène de l'entropie, que les systèmes génétiques aboutissent en général à utiliser, ce qui constitue une soupape de variabilité, tout en limitant sévèrement, sinon le désordre aboutit à la destruction du système lui-même (Monod, 1967).

C'est normalement la sélection naturelle qui assure cette destruction. Mais nos objectifs ne sont pas ceux de la nature et tel génotype qui serait détruit dans le milieu naturel peut être celui que nous recherchons : aussi bien, nous pouvons envisager d'augmenter le désordre bien au-delà de ce qui est admissible dans le milieu naturel. C'est même ce que nous devons faire si nous voulons réussir, en rendant l'efficacité de la recombinaison maximale.

En même temps, la recombinaison est le moyen du réassortiment de caractères présents chez les parents, de la réunion des caractères favorables et de l'élimination de ceux qui ne le sont pas.

Mais la recombinaison n'a cette efficacité que si elle s'exerce pour réassembler des segments où les chromosomes sont non-isoactifs au sens de Gillois (1964). Un crossing-over qui survient dans un segment homozygote, en effet, ne change rien aux systèmes fonctionnels que contrôle ce segment. Cet argument de Hanson (1959 *a, b, c, d*) n'est pas strictement exact, car une cassure de crossing-over peut survenir dans un segment homozygote, mais provoquer quand même un échange efficace si, à distance, il recombine des segments hétérozygotes. Plus exactement, la recombinaison n'est efficace, au sens de Hanson, que dans la mesure où elle fragmente les segments de chromosomes en segments plus petits : pour nous, le réassortiment de facteurs génétiques venant de parents différents donne aussi une efficacité à la recombinaison. En première approximation et sur ce point particulier la définition de Hanson a l'avantage de sous-estimer l'efficacité, donc de prévoir des résultats moins bons que dans la réalité.

Hanson (1959 *a, b, c, d*) a en effet étudié comment se fragmentent les chromosomes au cours des méioses successivement utilisées par un programme d'amélioration, dans une population supposée en panmixie et issue d'un certain nombre de parents.

Hanson postule implicitement que plus la recombinaison a été efficace, plus

TABLEAU I

*Longueur absolue moyenne des segments de chromosomes intacts après n générations de panmixie*

| Longueur du chromosome | Nombre de parents ($p$) | Générations de panmixie ($n$) | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 8 | 10 | 16 |
| 0.5. . . | 2 | .393 | .352 | .316 | .285 | .259 | .236 | .199 | .170 | .116 |
| | 3 | .393 | .339 | .295 | .259 | .229 | .204 | .166 | .138 | .090 |
| | 4 | .393 | .333 | .285 | .247 | .216 | .191 | .153 | .126 | .082 |
| | 6 | .393 | .327 | .276 | .236 | .204 | .179 | .142 | .116 | .074 |
| | 10 | .393 | .323 | .269 | .228 | .196 | .170 | .133 | .109 | .069 |
| | ∞ | .393 | .316 | .259 | .216 | .184 | .158 | .123 | .099 | .062 |
| 1.0. . . | 2 | .632 | .518 | .432 | .367 | .317 | .277 | .220 | .181 | .118 |
| | 3 | .632 | .487 | .387 | .317 | .266 | .228 | .176 | .143 | .091 |
| | 4 | .632 | .472 | .367 | .296 | .245 | .209 | .160 | .129 | .082 |
| | 6 | .632 | .458 | .349 | .277 | .228 | .192 | .146 | .118 | .074 |
| | 10 | .632 | .448 | .335 | .264 | .215 | .181 | .137 | .110 | .069 |
| | ∞ | .632 | .432 | .317 | .245 | .199 | .166 | .125 | .100 | .062 |
| 2.0. . . | 2 | .865 | .634 | .491 | .397 | .332 | .286 | .222 | .182 | .118 |
| | 3 | .865 | .579 | .424 | .332 | .272 | .231 | .176 | .143 | .091 |
| | 4 | .865 | .554 | .397 | .307 | .250 | .210 | .160 | .129 | .082 |
| | 6 | .865 | .532 | .373 | .284 | .231 | .194 | .146 | .118 | .074 |
| | 10 | .865 | .514 | .356 | .269 | .217 | .182 | .137 | .110 | .069 |
| | ∞ | .865 | .491 | .332 | .250 | .200 | .167 | .125 | .100 | .062 |

TABLEAU 2

*Longueur relative moyenne des segments de chromosomes intacts après n générations de panmixie*

| Longueur du chromosome | Nombre de parents ($p$) | Générations de panmixie ($n$) | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 8 | 10 | 16 |
| 0.5 | 2 | .786 | .704 | .632 | .570 | .518 | .472 | .398 | .240 | .232 |
| | 3 | .786 | .678 | .590 | .518 | .458 | .408 | .332 | .276 | .180 |
| | 4 | .786 | .666 | .570 | .494 | .432 | .382 | .306 | .252 | .164 |
| | 6 | .786 | .654 | .552 | .472 | .408 | .358 | .284 | .232 | .148 |
| | 10 | .786 | .646 | .538 | .456 | .392 | .340 | .266 | .218 | .138 |
| | ∞ | .786 | .632 | .518 | .432 | .368 | .316 | .246 | .198 | .124 |
| 1.0 | 2 | .632 | .518 | .432 | .367 | .317 | .277 | .220 | .181 | .118 |
| | 3 | .632 | .487 | .387 | .317 | .266 | .228 | .176 | .143 | .091 |
| | 4 | .632 | .472 | .367 | .296 | .245 | .209 | .160 | .129 | .082 |
| | 6 | .632 | .458 | .349 | .277 | .228 | .192 | .146 | .118 | .074 |
| | 10 | .632 | .448 | .335 | .264 | .215 | .181 | .137 | .110 | .069 |
| | ∞ | .632 | .432 | .317 | .245 | .199 | .166 | .125 | .100 | .062 |
| 2.0 | 2 | .432 | .317 | .245 | .193 | .166 | .143 | .111 | .091 | .059 |
| | 3 | .432 | .289 | .212 | .166 | .136 | .115 | .088 | .071 | .045 |
| | 4 | .432 | .277 | .198 | .153 | .125 | .105 | .080 | .064 | .041 |
| | 6 | .432 | .266 | .186 | .142 | .115 | .097 | .073 | .059 | .037 |
| | 10 | .432 | .257 | .178 | .134 | .108 | .091 | .068 | .055 | .034 |
| | ∞ | .432 | .245 | .166 | .125 | .100 | .083 | .062 | .050 | .031 |

grande est la variabilité observée dans la descendance. L'efficacité de la recombinaison se mesure à la diminution de la longueur moyenne des segments de chromosomes qui, après *n* générations, sont restés intacts, dans la configuration où ils se trouvaient, à l'origine, chez les parents. Il a étudié mathématiquement les lois de cette fragmentation. Ce postulat est appuyé par exemple par les résultats de l'école de DOBZHANSKY sur la libération de variabilité par la recombinaison (cf. p. ex. KRIMBAS, 1961).

La fragmentation dépend de la longueur du chromosome (en unités de recombinaison), du nombre de générations de panmixie et du nombre de parents mis en jeu au départ.

Le tableau 1, qui reproduit le tableau 1 (p. 863) de HANSON (1959 *d*) et présente les longueurs moyennes de segments intacts après *n* générations de panmixie à partir de *p* parents, montre les résultats auxquels on arrive.

On notera que l'on part de longueurs de segments très différentes suivant la longueur des chromosomes considérés, mais, à la limite ($n = 30$ générations), les longueurs absolues sont les mêmes. Si, d'autre part, on exprime les chiffres du tableau en pour-cent de la longueur du chromosome et non plus en longueur absolue, on voit (tabl. 2) que les chromosomes courts sont proportionnellement divisés en un nombre plus faible de segments que les longs (4 fois moins à la limite) : or c'est probablement le cas de la Vigne, ce qui est une explication supplémentaire des difficultés de réassortiment chez cette espèce.

A partir de ses résultats, HANSON conseille un programme dans lequel on part de quelques parents (au moins 4), on réalise le croisement diallèle entre ces parents, puis on croise entre eux au hasard les descendants de ces $F_1$, pendant au moins quatre générations.

HANSON s'est intéressé surtout au problème de l'amélioration des plantes autogames et envisage ensuite l'effet des générations d'autofécondations ultérieures nécessaires pour fixer les génotypes, dont nous n'avons évidemment pas besoin, puisque nous fixons automatiquement tout génotype obtenu en le multipliant végétativement, ce qui nous permet en particulier de tirer profit d'un génotype exceptionnel dont la valeur est le résultat de l'épistasie.

Cette manière de faire est d'autant plus avantageuse que l'on cherche souvent à réunir dans un même génotype plusieurs caractères que l'on ne possède chacun qu'à l'état isolé chez un géniteur potentiel.

Les développements de HANSON sont cependant basés sur une hypothèse purement mécanique du fonctionnement de la recombinaison. On sait bien que l'échelle de longueur chromosomique efface, par sa définition même, les *localisations* du crossing-over sur le support physique, et même fonctionnel, de l'information génétique : ce sont ces localisations qui sont responsables de la permancnce des linkats (DEMARLY, 1972) blocs d'information coadaptés et préservés ainsi de la désagrégation.

Mais on sait aussi depuis peu (PANDEY, 1972) que ces localisations, comme l'ensemble du phénomène de recombinaison, sont sous la dépendance de systèmes génétiques qui en contrôlent le fonctionnement. Le schéma de contrôle a été établi sur des champignons supérieurs, mais il semble pouvoir être étendu sans trop de risques d'erreur aux plantes supérieures également. On peut résumer la situation

en disant que le taux de recombinaison est contrôlé, sur l'ensemble du génome, par un système génétique polygénique où les allèles dominants tendent à le diminuer et même à le supprimer, et en des points spécifiques par des systèmes oligogéniques où ce seraient plutôt les allèles récessifs qui supprimeraient le crossing-over. Pour ce qui nous concerne, la conséquence en est que *l'état hétérozygote correspond à un blocage plus ou moins marqué de la recombinaison.*

D'autre part Sager (1972) suggère qu'une partie de ce contrôle pourrait provenir du cytoplasme, ce qui implique qu'il pourrait y avoir une influence du sens du croisement, c'est-à-dire du cytoplasme d'un individu, sur le taux de recombinaison observé dans ses méioses.

Voilà qui doit nous faire réfléchir. On peut voir, en effet, dans le système de contrôle de la recombinaison, un mécanisme ayant pour résultat de prévenir la destruction de combinaisons favorables par l'hétérosis qu'elles provoquent, qui a été favorisé pour cette raison par la sélection naturelle et qui est lié en partie à leur dissemblance. Il y a peut-être là l'explication des difficultés des « *hybrides producteurs directs* » : en effet on peut supposer que ce qui est vrai à l'intérieur d'une espèce, et pour des combinaisons géniques coadaptées, doit être encore renforcé dans les génotypes « hybrides » composés de combinaisons géniques homologues certes, puisque les espèces de *Vitis* sont interfertiles et leurs hybrides fertiles, mais très dissemblables, donc beaucoup moins bien coadaptées que dans le cas de l'homologie intraspécifique. Or les hybrideurs ont fort peu pratiqué l'autofécondation, qui semble être le seul moyen de rétablir un taux d'homozygotie suffisant pour rendre à nouveau possible un taux de recombinaison raisonnable : les généalogies connues font ressortir un recours presque constant à des croisements.

Pour intégrer l'ensemble de ces connaissances dans un système cohérent d'application, on est alors amené à envisager un système mixte, plus compliqué que celui de Hanson. Ce système intercale, après chaque génération de panmixie, une génération d'autofécondation, ou au moins de consanguinité, afin de former des génotypes composites en ce qui concerne l'origine de leurs segments chromosomiques homologues, mais suffisamment homozygotes pour que les contrôles de la recombinaison soient débloqués dans les méioses qui y surviennent. Les gamètes qui proviennent de ces dernières sont alors soumis à nouveau à la panmixie.

Il faut mentionner au passage que la possibilité d'agir directement sur le taux de recombinaison par des « manipulations » diverses semble exclue. En dehors du contrôle génétique, aucun agent ne semble doué d'une efficacité suffisante et ne semble suffisamment pratique pour être utilisable.

Nous avons vu que l'épistasie risque de nous tromper sur la valeur d'un génotype comme géniteur potentiel. Mais, bien entendu, nous savons fort bien qu'une part non-négligeable des effets géniques reste additive et que le phénotype est quand même en corrélation avec le génotype.

La recherche de l'aptitude spécifique à la combinaison a conduit Demarly (1972), à condamner l'utilisation de l'autofécondation préalable destinée à fixer (à « concentrer ») le caractère recherché dans les lignées dont on est alors plus sûr qu'elles sont capables de transmettre leurs caractères. C'est ce qu'avaient proposé Huglin et Julliard (1964) et que Wagner (1969) avait basé sur les résultats de Gallais (1968). En effet ce dernier montre que la « variabilité génétique de la

descendance dans les croisements entre géniteurs dérivés de quelques générations d'autofécondation est plus grande que quand il n'y a pas eu cette phase préalable de consanguinité », en soulignant « en l'absence d'épistasie ». Il faut remarquer que les résultats de POSPISILOVA (1974, 1975) montrent que la phase de consanguinité est utile : les hybrides qu'elle a obtenus en croisant au hasard des individus $S_1$ issus de « Roter Traminer » et de « Rotweisser Veltliner » sont plus vigoureux que les hybrides directs entre ces deux cépages. Il est évident qu'une sélection sévère a eu lieu parmi ces $S_1$ et que la contradiction avec la position de DEMARLY (1972) peut être attribuée à l'élimination d'une partie importante de la charge génétique. C'est bien la base de ce que GALLAIS préconise.

Pour citer encore DEMARLY (1972) : « la valeur de l'aptitude spécifique à la combinaison étant liée aux interactions alléliques entre les linkats portés par les gamètes qui s'unissent doit être sélectionnée dès le début d'un programme de sélection (...). Pour une espèce diploïde, dans un programme qui commence par des séries d'autofécondations, chaque génération élimine aveuglément la moitié des interactions qui conditionnent de manière polygénique l'aptitude spécifique à la combinaison ».

Or grâce à la fixation automatique par la multiplication végétative c'est bien « la spécificité d'une rencontre gamétique » que nous recherchons.

Enfin, dans l'arsenal des techniques suggérées par des développements théoriques récents, il nous reste à parler de la *sélection disruptive*.

Le terme est du à MATHER (1953). THODAY (1972) a récemment passé en revue les résultats significatifs à ce sujet.

Rappellons que la sélection disruptive consiste à ne laisser subsister à chaque génération que les phénotypes des deux extrêmes de la distribution d'un caractère, tout en leur permettant de se croiser entre eux pour produire la génération suivante. La sélection disruptive n'a en effet de sens que dans une phase d'intercroisement.

Les effets sont en général rapides et profonds; il apparaît souvent des barrières d'isolement qui renforcent la sélection en limitant les croisements entre extrêmes (THODAY et GIBSON, 1962).

Comme nous l'avons vu plus haut, j'ai utilisé (RIVES, 1962) ce phénomène pour expliquer la permanence des « espèces » du genre *Vitis* dans leurs aires sympatriques, où l'élimination des hybrides à phénotype intermédiaire est la règle.

Ce qui est intéressant, c'est que, dans des cas où l'on a utilisé ce type de sélection pour des objectifs pratiques, on a obtenu des réponses qui semblent plus rapides que dans une sélection massale unidirectionnelle (MURTY *et al.*, 1972).

Il semble donc que les échanges géniques et l'augmentation de l'efficacité des recombinaisons, qui résultent de cette introgression constante entre les groupes extrêmes, libèrent plus de variabilité que la sélection unidirectionnelle, et en tout cas suffisamment pour contrebalancer, et bien au-delà, les effets régressifs du croisement des très bons avec les très mauvais. Cela confirme que l'épistasie doit jouer un rôle important par comparaison aux effets additifs. Il est évident, de plus, que l'on a ainsi un obstacle permanent à la consanguinité, qui joue à la fois pour favoriser l'apparition de génotypes hétérozygotes, donc hétérotiques (ce qui élimine « l'effet d'inbreeding ») et pour augmenter les chances d'apparition et de coadapta-

tion de combinaisons génétiques présentant entre leurs gènes des interactions épistatiques favorables, c'est-à-dire des linkats.

Par ailleurs, on peut envisager une sélection, directionnelle pour un caractère, mais disruptive pour l'ensemble des autres qui sont neutres pour l'objectif recherché : cela permet d'aller plus loin encore que la panmixie en obtenant une hétérogamie moyenne encore supérieure, donc une diversité génétique entre partenaires de croisement encore plus grande.

Précisons que HANSEL (1969) semble avoir eu intuitivement et de manière indépendante l'idée d'un système analogue à celui de HANSON et que à notre connaissance celui-ci a été éprouvé (sans beaucoup de succès) par MATZINGER et WERNSMAN (1968) sur le Tabac, cependant que EMPIG (1971) et JENSEN (1970) proposaient des schémas inspirés par HANSON.

Je décrirai pour terminer un programme de croisements destiné à obtenir des cépages de cuve, noirs ou blancs, arômatiques, précoces, donnant un vin coloré et corsé, et, surtout, résistants à la pourriture grise due à *Botrytis cinerea*.

Au moment de la décision, on ne savait pratiquement rien sur l'aptitude des géniteurs à transmettre les caractères qui les font choisir :

— « Cabernet-Sauvignon », pour son arôme et sa résistance à la pourriture;

— « Ugni blanc » pour sa rusticité, sa vigueur, sa résistance à la pourriture, sa productivité;

— « Trieste » pour ses grappes très lâches, caractère considéré comme défavorable à la pourriture; la dimension de ses grappes est aussi intéressante;

— Un génotype teinturier d'identité inconnue, pour vérifier si le jus coloré est compatible avec un haut niveau de qualité;

— « Cot précoce » : il s'agit d'un mutant qui mûrit à Bordeaux le 20 août quand le « Cot » type *y* mûrit le 20 septembre.

Une première génération est obtenue en ce moment en réalisant tous les croisements possibles entre les cinq géniteurs deux à deux, soit 10 combinaisons, si on ne tient pas compte du sens du croisement.

Le schéma primitif prévoyait de réaliser ensuite tous les croisements entre génotypes pris dans les $F_1$ ainsi obtenues et qui unissent des descendants de quatre parents différents (n'ayant aucun grand parent en commun). Il y en a quinze, toujours si on ne tient pas compte du sens du croisement. Ceci devrait être réalisé en utilisant les individus femelles pour éviter la castration, et en cherchant à croiser entre eux des phénotypes aussi divergents que possible. De cette manière, on maximise la diversité génétique (au-delà de ce que permet la simple panximie) et on réalise une sélection disruptive également forcée, en augmentant la fréquence des croisements entre extrêmes.

La lecture de l'article de PANDEY (1972) suggère cependant, comme nous l'avons vu, de réaliser une autofécondation systématique, (ou des croisements sœur × frère pour utiliser les individus femelles) afin de rétablir une certaine homozygotie. Ensuite, on reprendra la « panmixie contrôlée » pour utiliser les recombinaisons rendues possibles au cours des méioses sur les génotypes issus d'autofécondation ou de consanguinité.

L'article de SAGER (1972) suggère également de réaliser systématiquement les

croisements dans les deux sens afin d'explorer l'influence de tous les cytoplasmes parentaux.

Il est inutile d'insister sur le fait qu'un tel programme ne peut être envisagé que grâce à la mise au point de la technique d'élevage des plants de semis en serre par HUGLIN et JULLIARD (1964) que nous utilisons.

La part de l'hypothèse est grande dans ces réflexions. Mais je pense que c'est actuellement le maximum que l'on peut faire pour intégrer les connaissances génétiques modernes dans le schéma de l'amélioration de la Vigne.

Dans un article de *Biometrics* (vol. **17**, nº 3), le résumé se terminait ainsi : « Unbiasedness implies that fishing is a Poisson process », à quoi une « lettre à l'éditeur » (vol. **18**, nº 3) répondait : « So does a knowledge of french ».

Nous avons coutume, en effet de dire qu'une sélection faite sans moyens d'assurer son efficacité est une pêche à la ligne. J'aurai rempli mon objectif si j'ai contribué à diminuer la part du hasard dans la quête d'un bon génotype.

*Reçu pour publication en août 1976.*

## Summary


### *A strategy for Grapevine breeding*

In a vegetatively propagated species like the Grapevine, the breeder can take advantage of all gene effects: additive, dominance (or superdominance) and epistasis.

This last effect has been repeatedly found responsible of a large part of the total genetic variation in several species (JINKS 1955, SPIESS and ALLEN 1961, FASOULAS and ALLARD 1962). DEMARLY (1972) has shown its importance in controlling specific combining ability.

In vegetatively propagated species like the Vine, however, this means that phenotypic information on potential parent genotypes is of poor value for the breeder. This uncertainty on the choice of parents together with the length of generations and the restricted numbers of progeny that may be grown and evaluated calls for a special effort in controlling the remaining variable in plant breeding. namely genetical recombination.

Following HANSON'S (1959 *a*, *b*, *c*, *d*) theoretical developments one may assume that maximum efficiency recombination will obtain through the intercrossing of several parent genotypes and their progenies for a number of generations.

Through efficient break-up of the original parental chromosomes through recombination, optimal variation will obtain in the progeny of the intercross as observed by DOBZHANSKY'S school as " variation arising through recombination " (see for ex. KRIMBAS 1961).

There are however some limitations to this mechanistic approach, namely the localisation of crossing-over on the chromosome, leading to the build-up of *linkats* (DEMARLY 1972) or supergenes, and the apparently general occurrence of genetic control of recombination especially through its restriction by a system of recessive alleles.

This leads to an amendment of HANSON'S strategy by including inbreeding generations in between the intercrossing ones.

One may also wish to use recombination promoting agents such as chemicals or radiations.

Carefull planning of the intercrosses may also be used instead of random or free intercrossing:

As the first step in HANSON'S strategy is a diallele cross between all parent genotypes, followed by intercrossing the F-ones, one may restrict these last intercrosses to those involving only F-ones between four different parents i.e AB × CD, not AB × BC.

Another alteration could be combining a directional selection for say vigour or another usefull trait, and disruptive selection (that is the crossing of opposite extremes) for all other ones.

Both means should maximise genetic heterogeneity between the parents, hence the efficiency of the recombination in the meiosis of their hybrids.

An intercrossing plan for breeding hardy, grey mold resistant, colorfull, early, flavored varieties is described. It includes « Cabernet-Sauvignon », — « Ugni-blanc », — « Trieste », « Cot early » and an unnamed colored-juice clone, as original parents. It was started in 1972 and is currently under progress.

## Références bibliographiques

DEMARLY Y., 1972. Commentaires sur les aptitudes à la combinaison. *Ann. Amélior. Plantes*, **22**, 187-200.

EMPIG L. T., 1971. Program designed to maximize genetic variability in the breeding of self-fertilizing crops. *Philippine Agric.*, **54**, 319-324.

FASOULAS A. C., ALLARD R. W., 1962. Nonallelic gene interactions in the inheritance of quantitative characters in Barley. *Genetics*, **47**, 899-907.

FINNEY D. T., 1958. Statistical problems of plant selection. *Bull. Inst. int. Stat.*, **36**, 242-268.

FISHER R. A., 1918. The correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance. *Trans. Roy. Soc. Edinb.*, **52**, 399-433.

GALLAIS A., 1969. L'analyse diallèle. *Séminaire Génét. Quant., Lusignan*, 5 p.

GILLOIS, 1964. La relation d'identité en génétique. *Thèse Paris.*

HANSEL H., 1969. The use of intercross generations in wheat breeding (the « bulk crossing » method of breeding). *Z. Pflanzenzücht*, **62**, 24-46.

HANSON W. D., 1959 *a*. The theoretical distribution of lengths of parental gene blocks in the gametes of an F1 individual. *Genetics*, **44**, 197-209.

HANSON W. D., 1959 *b*. Early generation analysis of lengths of heterozygous chromosome segments around a locus held heterozygous with blackcrossing or selfing. *Genetics*, **44**, 833-837.

HANSON W. D., 1959 *c*. Theoretical distribution of the initial linkage block lengths intact in the gametes of a population intermated for n generations. *Genetics*, **44**, 839-846.

HANSON W. D., 1959 *d*. The breakup of initial linkage blocks under selected mating systems. *Genetics*, **44**, 857-868.

HUGLIN P., JULLIARD B., 1964. Sur l'obtention de semis de vignes très vigoureux à mise à fruits rapide et ses répercussions sur l'amélioration génétique de la vigne. *Ann. Amélior. Plantes*, **14**, 229-244.

JANA, S. 1971. Simulation of quantitative characters from qualitatively acting genes. I. Nonallelic gene interactions involving two or three loci. *Theor. appl. Genet.*, **41**, 216-226.

JINKS J. L., 1955. A survey of the genetical basis of heterosis in a variety of diallel crosses. *Heredity*, **9**, 223-238.

KRIMBAS C. B., 1961. Release of genetic variability through recombinaison. VI. *Drosophila willistoni. Genetics*, **46**, 1323-1334.

MATHER K., 1953. The genetical structure of populations. *Symp. Soc. exp. Biol.*, **7**, 66-95.

MATZINGER D. F., WERNSMAN E. A., 1968. Four cycles of mass selection in a synthetic variety of an autogamous species *Nicotiana tabacum* L. *Crop Sci.*, **8**, 239-243.

MONOD J., 1967. Leçon inaugurale. *Collège de France*, Paris, 31 p.

MURTY B. R., ARUNACHALAM V., DOLOI P. C., RAM J., 1972. Effects of disruptive selection for flowering time in *Brassica campestris* var. Brown sarson. *Heredity*, **28**, 287-295.

PANDEY K. R., 1972. Origin of genetic variation: regulation of genetic recombination in the higher organisms—a theory. *Theor. appl. Genet.*, **42**, 250-261.

POSPISILOVA D., 1974. Heterosiszüchtung bei *Vitis vinifera* L. *Vitis*, **13**, 89-97.

POSPISILOVA D., 1975. Ertragssteigerung innerhalb der Heterosiskreuzungen von *Vitis vinifera* L. *Mitt. Klost.*, **25**, 167-170.

RIVES M., 1962. Centre d'origine et diversification spécifique dans le genre *Vitis*. 3e *Congrès Eucarpia, Paris*, 197-201.

RIVES M., 1963. Prospection préliminaire des espèces américaines du genre *Vitis*. *Ann. Amélior. Plantes*, **13**, 51-82.

RIVES M., 1971. Ampélographie, in *Science et Technique de la Vigne*, **1**, 131-170; (Ribéreau-Gayon J. et Peynaud E., éd.) Dunod.

SAGER R., 1972. Evolution of preferential transmission mechanisms in cytoplasmic genetic systems. In *Evolution of Genetic systems*, ed. H. H. Smith, New York, Gordon and Breach, 495-502.

SPIESS E. B., ALLEN A. C., 1961. Release of genetic variability through recombinaison. VI. Second and third chromosomes of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, **46**, 1531-1553.

THODAY J. M., 1972. Disruptive selection. *Proc. R. Soc., London*, B, **182**, 109-143.

THODAY J. M., GIBSON J. B., 1962. Isolation by disruptive selection. *Nature*, **193**, 1164-1166.

WAGNER R., 1969. Miglioramento genetico della Vite. *Seminario tenutosi del Ist. di Coltivazioni Arboree dell' Universita di Pisa*, **8**, 3-29.

---

[illegible] R. W., ALLARD R. W., [illegible]. Release of genetic variability through recombination. VI. [illegible] Genetics, 48, [illegible].
THODAY J. M., [illegible]. Disruptive selection. Proc. R. Soc., London, B, [illegible].
THODAY J. M., GIBSON J. B., 1962. Isolation by disruptive selection. Nature, 193, 1164-1166.
WAGNER R., 1966. Miglioramento genetico della Vite. Seminario tenutosi del Ist. di Coltivazioni Arboree dell' Università di Pisa, 8, 1-29.

## Références Bibliographiques

DEMARLY Y., [illegible]. Commentaires sur les aptitudes à la combinaison. Ann. Amélior. Plantes, 22, 187-200.
[illegible]. Program designed to maximize genetic variability in the breeding of self-fertilizing crops. [illegible], 54, [illegible].
FASOULAS A. C., ALLARD R. W., [illegible]. Nonallelic gene interactions in the inheritance of quantitative characters in Barley. Genetics, 47, [illegible].
FINNEY D. J., [illegible]. Statistical problems of plant selection. Bull. Inst. int. Stat., 36, [illegible].
FISHER R. A., 1918. The correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance. Trans. Roy. Soc. Edinb., 52, 399-433.
GALLAIS A., [illegible]. L'analyse diallèle. Séminaire Génét. Quant. Lusignan, 5 p.
GILLOIS, [illegible]. La relation d'identité en génétique. Thèse Paris.
[illegible]. The use of intercross generations in wheat breeding (the « bulk crossing » method of breeding). [illegible].
HANSON W. D., [illegible] a. The theoretical distribution of lengths of parental gene blocks in the gametes of an F1 individual. Genetics, 44, [illegible].
HANSON W. D., [illegible] b. The [illegible] generation analysis of lengths of heterozygous chromosome segments around a locus held heterozygous with backcrossing or selfing. Genetics, 44, [illegible].
HANSON W. D., [illegible] c. Theoretical distribution of the initial linkage block lengths intact in the gametes of a population intermated for n generations. Genetics, 44, [illegible].
HANSON W. D., [illegible] d. The breakup of initial linkage blocks under selected mating systems. Genetics, 44, [illegible].
[illegible]
[illegible]. Simulation of quantitative characters from qualitatively acting genes. I. Non-allelic gene interactions involving two or three loci. Theor. Appl. Genet., 41, [illegible].
[illegible]. A survey of the practical [illegible].
[illegible]. Release of genetic variability through recombination. VI. [illegible] Genetics, 48, [illegible].
MATHER K., [illegible]. The genetical structure of populations. Symp. Soc. exp. Biol., 7, [illegible].
[illegible]
MEYER J., [illegible]. [illegible] Paris, [illegible].
[illegible]. Effects of disruptive selection [illegible].
[illegible]. Origin of [illegible] regulation of genetic recombination in the higher organisms. [illegible].
[illegible]
[illegible]
RIVES M., [illegible]. Centre d'origine et diversification génétique dans le genre Vitis. [illegible]
RIVES M., [illegible]. Prospection préliminaire des espèces américaines du genre Vitis. Ann. Amélior. Plantes, 13, [illegible].
RIVES M., [illegible]. Amélioration. In Sciences et Techniques de la Vigne, 1, [illegible]. Dunod.
[illegible]. Evolution of [illegible] recombination [illegible]. In [illegible], ed. [illegible]. New York, [illegible].

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (1), 75-86.

# Amélioration génétique de la Vigne : essai de définition d'un schéma de sélection applicable à la création de nouvelles variétés

A. BOUQUET

*Station de Recherches de Viticulture,*
*Centre de Recherches de Bordeaux, I.N.R.A.,*
*Pont-de-la-Maye, 33140 Villenave-d'Ornon*

## Résumé

Un schéma de sélection applicable à la Vigne est décrit, visant à maximiser la variabilité génétique à l'intérieur d'une population tout en permettant une augmentation de la valeur moyenne de celle-ci pour un ou plusieurs caractères. Il est basé sur une utilisation rationnelle de la culture hydroponique en serre des plants de semis, qui permet la réalisation de croisements factoriels successifs entre la population soumise à sélection et la population initiale, en intercalant une génération d'autofécondation entre chaque cycle de croisements.

La sélection peut se définir comme la mise en œuvre des techniques de manipulation des génotypes les plus efficaces et les plus rationnelles, permettant de provoquer et de détecter les associations de gènes les plus performantes.

La théorie de la sélection vise donc à donner au sélectionneur des règles d'action basées sur une connaissance préalable des mécanismes d'action des gènes, mais aussi des mécanismes de leur recombinaison, qui permettront de relier l'appréciation d'un phénotype à une structure génotypique, et en fin de compte donneront la possibilité de prévoir les performances de tout ou partie du matériel sur lequel aura prise la sélection.

Définir un schéma de sélection pour la Vigne doit donc tenir compte de l'ensemble des données actuellement disponibles dans les différents domaines de la génétique (quantitative, évolutive,...), données qui seront exploitées en fonction des connaissances préalablement acquises sur le comportement de cette plante.

D'un autre côté, un schéma de sélection rationnel ne peut pas se contenter d'être un modèle d'abstraction et doit tenir compte également de toutes les contraintes matérielles propres au végétal, dont la sous-estimation risque d'hypothéquer gravement son intérêt pratique.

## I. — Les schémas classiques de sélection de la Vigne

Les différentes méthodes de sélection de la Vigne actuellement pratiquées par les sélectionneurs peuvent se ramener à deux schémas principaux que nous pouvons appeler schéma « en parallèle » et schéma « en série », par analogie au vocabulaire utilisé en électricité (fig. 1).

### a) *Schéma en parallèle*

Il consiste à créer par hybridation à partir d'une population $P_0$, constituée généralement par une collection de cépages cultivés, un ensemble de populations $P_1$, $P_2$, $P_3$, ... $P_n$, correspondant à des familles $F_1$, qui sont soumises à sélection afin d'en tirer des génotypes intéressants immédiatement fixables par multiplication végétative et utilisables par conséquent comme variétés améliorées.

Ce schéma, qui est en particulier celui utilisé par Branas et Truel (1969) a l'avantage de permettre une exploitation relativement large de la variabilité de la population de départ $P_0$. Sa réalisation peut également être très rapide puisqu'il n'y a pas de délais imposés dans la création des différentes populations $P_1$, $P_2$, $P_3$,... $P_n$ qui sont théoriquement indépendantes. On peut toutefois concevoir une variante où cette indépendance ne jouerait plus et où le choix des cépages servant de géniteurs aux populations $P_n$, $P_{n+1}$, ... serait orienté par le résultat de l'étude des populations $P_1$, $P_2$, ... $P_{n-1}$, ce qui implique par conséquent un certain délai. Le système des croisements « exploratoires » proposé par Branas (1974), dans lequel les populations $P_{n+1}$, $P_{n+2}$, ..., ne sont qu'un sous-ensemble des populationss $P_1$, $P_2$, ..., $P_n$, peut en être une illustration.

Le principal inconvénient de la méthode réside dans le fait qu'on a recours au même pool génique de départ $P_0$, pour la création de chaque nouvelle population soumise à sélection. Si la variabilité est préservée, le progrès génétique escompté peut s'en trouver limité.

### b) *Schéma en série*

Il consiste à créer par hybridation, toujours à partir d'une population $P_0$, une population $P_1$ qui est soumise à sélection. Le résultat de cette sélection est une population $P'_1$ composée de quelques génotypes à hautes performances qui sont utilisés dans la création d'une nouvelle population $P_2$, à son tour soumise à sélection, et ainsi de suite...

C'est la méthode classiquement utilisée par les hybrideurs français de la 1^re^ moitié du XX^e^ siècle (Seibel, Couderc, Seyve-Villard...).

Ce schéma présente l'avantage de permettre un progrès génétique non négligeable, puisque chaque cycle de croisement fait intervenir des génotypes sévèrement sélectionnés. Par contre, il a deux inconvénients de taille : d'une part, il nécessite des délais assez longs (6 à 10 ans minimum) entre chaque cycle; d'autre part il entraîne une réduction considérable de la variabilité génétique, susceptible

d'hypothéquer l'efficacité de la sélection. L'étude de la généalogie des hybrides producteurs directs fait ainsi apparaître une base génétique extrêmement restreinte, qui a pu (en partie) être à l'origine de leur échec.

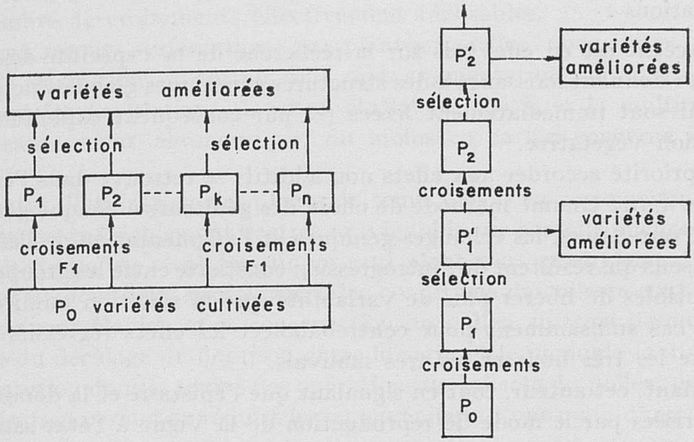



FIG. 1. — *Schéma « en parallèle »* (à gauche). *Schéma « en série »* (à droite).

Les limites de ces deux méthodes de sélection conduisent à rechercher un schéma rationnel qui combinerait les avantages de chacun sans en avoir les inconvénients, c'est-à-dire conçu de façon à préserver, voire à augmenter la variabilité génétique dans la population soumise à sélection tout en permettant une évolution rapide de celle-ci dans le sens d'une augmentation de sa valeur moyenne pour un ou plusieurs caractères agronomiquement intéressants.

## II. — La technique de culture hydroponique en serre : son intérêt en sélection

Ce schéma est basé essentiellement sur l'utilisation de la culture hydroponique en serre (HUGLIN et JULLIARD, 1964). Cependant, l'utilité de cette technique, qui permet d'obtenir une fructification des plants de semis en moins de deux ans n'a été jusqu'à présent soulignée que pour la mise au point de tests précoces de sélection, susceptibles d'être effectués avant l'implantation au vignoble, et permettant ainsi une économie considérable en surface et main-d'œuvre (WAGNER, 1967; WAGNER et BRONNER, 1974). L'accélération des générations qu'elle rend possible avait été initialement envisagée, dans le but de fixer rapidement par autofécondations certains caractères (HUGLIN et JULLIARD, 1964). Mais l'effet dépressif sur la vigueur et par conséquent la fertilité, provoqué dès les premières générations de consanguinité chez la Vigne ne pouvait qu'hypothéquer lourdement l'avenir d'une telle application.

En fait, RIVES (1977) se basant sur les résultats de HANSON (1959) relatifs à l'influence des générations successives de panmixie sur l'efficacité de la recombinaison génétique, est le premier à souligner l'intérêt de la culture hydroponique en

serre pour la réalisation de croisements multiples en vue de maximiser la variabilité génétique et par conséquent la probabilité de trouver un génotype intéressant. Cependant, le schéma de sélection proposé par cet auteur sous le nom de « panmixie contrôlée », et dont le nôtre s'inspire d'ailleurs en partie, présente deux limitations :

— L'accent est en effet mis sur la recherche de la « spécifité des rencontres gamétiques » donnant naissance à des structures génétiques globales riches en interactions, qui sont immédiatement fixées (et par conséquent exploitables) par la multiplication végétative.

Cette priorité accordée aux effets non additifs se retrouve dans l'emploi de la *sélection disruptive* comme méthode de choix des géniteurs à chaque génération de panmixie. Pour RIVES, les échanges géniques et l'augmentation de l'efficacité des recombinaisons qui résultent de l'introgression constante entre les groupes extrêmes sont susceptibles de libérer plus de variabilité que la sélection unidirectionnelle, et en tout cas suffisamment pour contrebalancer les effets régressifs des croisements entre les très bons et les très mauvais.

Cependant, cet auteur, tout en signalant que l'épistasie et la dominance, sans doute favorisées par le mode de reproduction de la Vigne à l'état sauvage (allogamie stricte) risque de nous tromper sur la valeur d'un génotype comme géniteur potentiel, reconnaît qu'une part non négligeable des effets géniques doit rester additive. On peut par conséquent regretter que cette part de variabilité due aux effets additifs ne soit pas mise à profit, autrement que de manière aléatoire, au moyen de dispositifs expérimentaux faisant intervenir par exemple la mesure de l'aptitude générale à la combinaison de chaque géniteur potentiel. Il est en effet beaucoup plus logique, tout en recherchant la spécificité des rencontres gamétiques, de travailler sur un matériel dont on sait qu'il possède une bonne « balance interne » dans le sens donné par DEMARLY (1972) et d'améliorer ainsi le point de départ de la recherche des interactions.

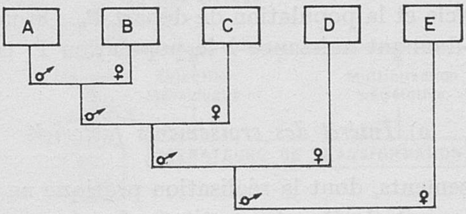
— La deuxième limitation est d'ordre plus pratique : en effet, la méthode de sélection proposée par RIVES implique de croiser entre eux les génotypes issus de chaque génération de panmixie en commençant d'abord par les individus $F_1$ issus de parents différents et ainsi de suite, suivant un schéma de type pyramidal. Or, les croisements en serre sont difficiles à réaliser sur des plants de semis hermaphrodites. Les opérations de castration sont rendues délicates par la fragilité des fleurs. De plus, la croissance vigoureuse des plants de semis qui se poursuit pendant et après la maturation des grappes a pour conséquence un pouvoir germinatif très faible des graines (compétition nutritive entre les apex en croissance, les baies et les embryons). Le pouvoir germinatif peut toutefois être augmenté par un pincement des extrémités en croissance et la suppression des ramifications secondaires dès la floraison. On peut également réduire la vigueur des plants de semis la deuxième année par une dilution de la solution nutritive. Quoiqu'il en soit, difficulté des castrations et faible pouvoir germinatif des graines contribuent à limiter considérablement les descendances maternelles issues des génotypes sélectionnés, et par conséquent la variabilité disponible pour le choix des géniteurs du cycle suivant de « panmixie contrôlée ». Augmenter le nombre des génotypes pour pallier l'insuffisance de leurs descendances reviendrait à diminuer d'autant la pres-

sion de sélection et donc son efficacité. De toutes manières, le développement extrêmement rapide des plants de semis en serre et leur phénologie homogène, ne laissent qu'une période de temps réduite pour les opérations de castration et de pollinisation, ce qui, à main-d'œuvre constante, contribue à limiter considérablement le nombre de croisements effectivement réalisables.

Quant au recours systématique aux plantes femelles, pour éviter les inconvénients de la castration, il entraînerait une augmentation de la fréquence de l'allèle F dans les populations (DOAZAN et RIVES, 1967), et la multiplication de génotypes sans valeur agronomique, du moins en ce qui concerne les variétés greffons.

Par contre, l'utilisation des plants de semis élevés en serre comme pollinisateurs de cépages préalablement castrés au vignoble, ne soulève aucune difficulté : les quantités de pollen récoltées sur un seul plant sont généralement suffisantes pour réaliser de nombreux croisements, les conditions de collecte sont excellentes (hygrométrie contrôlable), et la conservation du pollen au froid permet de régler le problème du décalage de floraison entre la serre et le vignoble (2 à 3 mois). De plus, la séparation dans le temps des opérations de collecte du pollen, de castration et de pollinisation permet de réduire les inconvénients d'une main-d'œuvre en quantité limitée.

Enfin et surtout, le décalage de floraison et le stockage du pollen rendent possible une sélection des plants de semis pour des caractères du fruit, l'année même de leur utilisation comme pollinisateurs. Cette technique permet donc une accélération effective des générations chez la Vigne, sans contraintes matérielles ni limitations au niveau des descendances. Elle peut s'appliquer à des plans de croisements multiples relativement simples entre plusieurs parents, du type :




On voit immédiatement son intérêt dans le cas de rétrocroisements suivant une hybridation interspécifique (introgression d'un caractère de résistance aux parasites) : l'effet d'inbreeding particulièrement marqué chez la Vigne nécessite en effet des rétrocroisements par des cépages différents. On peut également envisager son utilisation dans un programme de création de variétés « teinturières » de haute qualité : le caractère teinturier (jus coloré), monogénique dominant, se prête en effet facilement à une sélection en serre. De telles applications restent cependant limitées. C'est pourquoi nous avons cherché à l'intégrer à un schéma de sélection plus général.

## III. — Description du schéma de sélection

Il repose essentiellement sur une distinction effective entre la sélection de nouvelles variétés proprement dite et l'amélioration du matériel servant de base à cette sélection (cf. fig. 2). L'amélioration du matériel de base est menée de façon cyclique et vise à augmenter la valeur moyenne de la population par une série d'« opérateurs de transformation » successifs (GALLAIS, 1976 *b*). Parmi ces opérateurs, les tests de sélection pratiqués ne peuvent naturellement porter que sur des caractères mesurables en serre, ce qui exclut *a priori* des caractères tels qu'un bon équilibre rendement-qualité.

Le matériel de sortie d'un cycle, constitué par une population de génotypes sélectionnés, sert de matériel d'entrée au cycle suivant : la succession de cycles permet ainsi d'augmenter la fréquence des associations géniques favorables vis-à-vis du (ou des) critère (s) de sélection.

A chaque étape, il y a possibilité de création variétale sous l'action d'autres opérateurs de transformation : sélection individuelle au vignoble, multiplication végétative, sélection familiale (ou clonale), qui permettent d'exploiter la variabilité créée au sein de chaque nouvelle population et d'en extraire les génotypes agronomiquement et qualitativement les plus intéressants.

Pour passer d'un cycle à un autre, le système de reproduction idéal maximisant la recombinaison génétique, et par conséquent les fréquences d'associations géniques intéressantes, serait une « panmixie contrôlée » (RIVES, 1977) entre les génotypes retenus à la fin de chaque cycle. En fait, nous avons vu que les croisements entre des plants de semis élevés en serre sont très difficiles à effectuer, ce qui rend la réalisation de cette panmixie contrôlée très aléatoire. Le système de reproduction choisi, toujours dans l'optique d'une maximisation de la recombinaison génétique, est un croisement de type factoriel entre les génotypes retenus à la fin de chaque cycle et la population de départ $P_0$. On notera d'ailleurs que le croisement factoriel donnant naissance à la population $P_1$ est en fait un diallèle.

### a) *Intérêt des croisements factoriels*

Ce type de croisements, dont la réalisation pratique ne pose aucun problème puisque la population initiale $P_0$ est constituée de cépages installés au vignoble se prêtant bien aux opérations de castration et pollinisation, s'inspire du « Design II » de Caroline du Nord (COMSTOCK et ROBINSON, 1952) dans lequel l'échantillon de plantes mâles et celui de plantes femelles ne sont pas identiques, à la différence d'un diallèle. Ils peuvent s'assimiler à un schéma de sélection à testeur constant et permettent d'identifier à chaque cycle les génotypes présentant non seulement les aptitudes générales à la combinaison les plus élevées, mais également les variances intercroisements les plus faibles. En effet, GALLAIS (1976 *a*) souligne que plusieurs génotypes peuvent réaliser la même A.G.C. de façon tout à fait différente et que le génotype idéal est celui qui a une bonne A.G.C. avec une faible variance intercroisements. Seul un plan factoriel (Design II ou diallèle) permet de repérer ce génotype. Un simple test top-cross en est incapable.

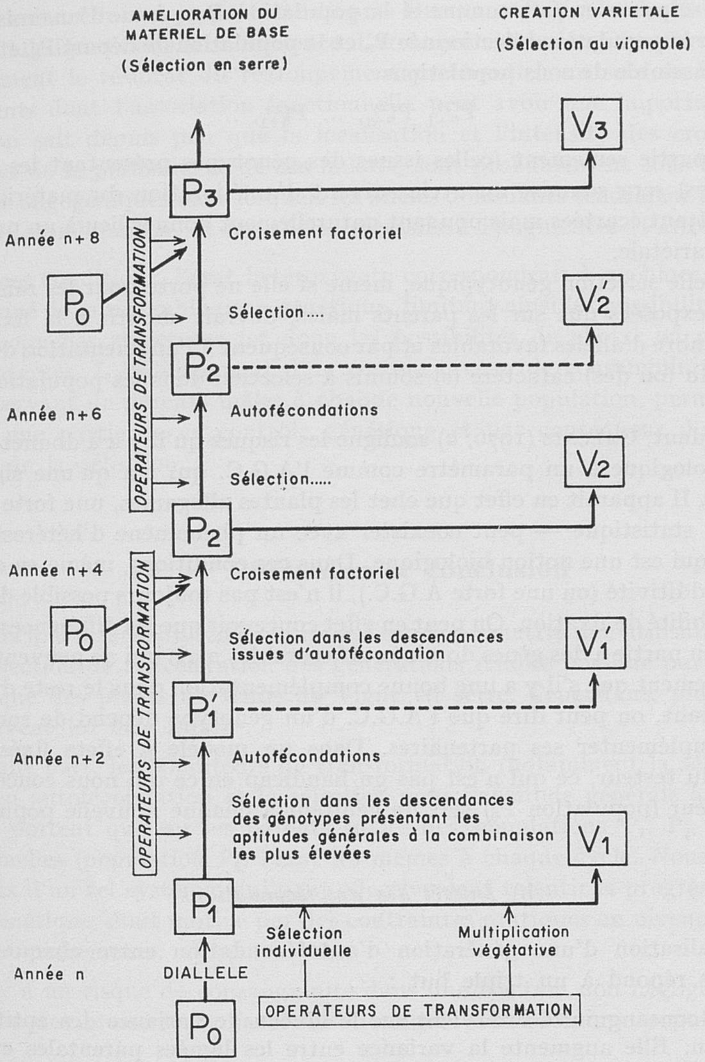



FIG. 2. — *Méthode de sélection par croisements factoriels récurrents.*

La part d'aptitude générale à la combinaison liée aux effets principaux d'additivité, exprimée en valeur gamétique moyenne, se retrouve dans toutes les descendances issues par filiation de la structure parentale initiale (DEMARLY, 1972).Les opérateurs de transformation ultérieurs (autofécondations suivies d'une sélection individuelle au sein des lignées $I_1$) porteront par conséquent sur les descendances des génotypes présentant les A.G.C. les plus élevées.

Le système de plan factoriel utilisé permet donc de réaliser simultanément :

— une sélection génotypique sur les parents mâles de la population qui sera soumise au cycle suivant d'amélioration,

— les croisements donnant naissance à cette population.

Tout se passe en fait comme si la population $P_{n+1}$ issue d'un croisement factoriel entre la population sélectionnée $P_n$ et la population de départ $P_0$, était composée d'un ensemble de sous-populations

$$P_{n+1}^{(1)}\ P_{n+1}^{(2)}, \ldots\ P_{n+1}^{(n)}, \ldots$$

dont une partie seulement (celles issues des génotypes présentant les A.G.C. les plus élevées) sera soumise au cycle suivant d'amélioration du matériel de base, les autres étant écartées mais pouvant naturellement donner lieu à un processus de création variétale.

Une telle sélection génotypique, même si elle ne porte pour les raisons précédemment exposées que sur les parents mâles, devrait aboutir à la fixation d'un certain nombre d'allèles favorables et par conséquent à l'augmentation de la valeur moyenne du (ou des) caractère (s) soumis à sélection dans les populations successives.

Cependant, GALLAIS (1976, *a*) souligne les risques qu'il y a à donner une signification biologique à un paramètre comme l'A.G.C. qui n'a qu'une signification statistique. Il apparaît en effet que chez les plantes allogames, une forte additivité — au sens statistique — peut coexister avec un phénomène d'hétérosis lié à de l'épistasie qui est une notion biologique. Dans ces conditions, même en constatant une forte additivité (ou une forte A.G.C.), il n'est pas toujours possible de conclure à une possibilité de fixation. On peut en effet concevoir que les différences en A.G.C. sont dues en partie à des gènes dominants favorables mais qui ne peuvent fonctionner correctement que s'il y a une bonne complémentation dans le reste du génome. En simplifiant, on peut dire que l'A.G.C. d'un génotype dépend de son aptitude à bien complémenter ses partenaires. Dans un modèle à effets fixés, l'A.G.C. dépendra du testeur, ce qui n'est pas un handicap en ce qui nous concerne, puisque le testeur (population $P_0$) sert de géniteur à chaque nouvelle population.

### b) *Intérêt des autofécondations*

La réalisation d'une génération d'autofécondation entre chaque cycle de croisements répond à un triple but :

— La consanguinité intervient sur le niveau de variance des aptitudes à la combinaison. Elle augmente la variance entre les lignées parentales et diminue l'hétérogénéité des valeurs gamétiques d'un parent, donc la variance intra-croisements. Elle permet par conséquent de mieux cerner les valeurs propres d'une plante donnée (DEMARLY, 1972).

— L'utilisation du critère valeur en autofécondation permet de sélectionner des génotypes possédant une balance interne relativement bien équilibrée, ce qui ne peut avoir qu'une influence favorable sur le niveau général des populations successives, puisque ce sont ces génotypes qui leur serviront de parents mâles. GALLAIS (1976, *a*) souligne la faiblesse de la corrélation entre valeur en autofécondation et valeur en A.G.C. pour les premiers cycles de sélection chez les plantes allogames. Il est donc peu probable que la sélection phénotypique effectuée dans les descendances d'autofécondation ait pour conséquence une réduction importante de la variabilité en A.G.C.

— La balance interne représente d'après DEMARLY (1972) le résultat du choix des formes alléliques dans leur séquence d'arrangement le long des chromosomes, mais également le résultat du regroupement préférentiel, au sein de linkats, de loci différents dont l'association fonctionnelle peut avoir une importance sélective. Or, on sait depuis peu que la localisation et l'intensité des crossing-over responsables de la permanence de ces linkats, sont probablement sous le contrôle de systèmes oligogéniques dans lesquels les allèles dominants tendraient à diminuer le taux de recombinaison, et les allèles récessifs à l'augmenter (PANDEY, 1972).

Dans ces conditions, l'état hétérozygote correspondrait à un blocage plus ou moins marqué de la recombinaison génétique, limitant ainsi les possibilités d'apparition de nouvelles structures (et donc les possibilités de choix) au niveau des balances internes. L'établissement d'un certain niveau de consanguinité chez les individus servant de parents mâles à chaque nouvelle population, permettrait de débloquer une partie de ce contrôle génétique et par conséquent d'augmenter l'efficacité de la sélection.

## IV. — Discussion et conclusion

Le principal intérêt du schéma proposé est de permettre une utilisation rationnelle en sélection de l'accélération des générations rendue possible par la culture hydroponique des plants de semis de Vigne en serre. Cependant, plusieurs critiques peuvent lui être faites :

*a*) D'une part, les opérateurs de transformation (notamment la sélection sur la valeur en autofécondation et la sélection pour l'aptitude générale à la combinaison) ne portent que sur les parents mâles des populations $P_1$, $P_2$, ... $P_n$, les parents femelles (population $P_0$) étant les mêmes à chaque cycle. Nous avons vu que le choix d'un tel système, qui peut effectivement ralentir le progrès de l'amélioration génétique, était motivé par des contraintes pratiques au niveau de la réalisation des croisements.

*b*) Il y a un risque de consanguinité dans une fraction non négligeable de la descendance des croisements factoriels donnant naissance aux populations $P_2$, $P_3$ ... $P_n$.

Cette consanguinité, aggravée par le fait que les parents mâles sont eux-mêmes des individus issus d'autofécondation, risque de biaiser la mesure de l'aptitude générale à la combinaison, notamment dans le cas où les caractères soumis à sélection concernent l'aptitude à la reproduction (fertilité, dimension des grappes, etc...) ou l'efficience physiologique (efficacité photosynthétique, etc.).

Pour éviter ou du moins limiter cet inconvénient, on peut s'orienter :

— soit vers un schéma de sélection avec un matériel de départ (population $P_0$) suffisamment large, mais toujours bien circonscrit au départ. En fait, la lourdeur des opérations de croisement, tant au niveau du diallèle initial que des plans factoriels successifs, fait qu'il semble difficile d'envisager une population $P_0$ constituée de plus de 5 cépages;

— soit vers un schéma de type pyramidal correspondant à une base génétique qui irait en s'élargissant d'un cycle de sélection au suivant, les croisements factoriels successifs faisant intervenir comme testeurs des populations différentes $P_0$, $Q_0$, $R_0$, $S_0$, ..., composées d'un nombre réduit de cépages.

Un tel schéma qu'on peut qualifier d' « ouvert » par opposition au schéma précédent à testeur $P_0$ constant (schéma « fermé ») présenterait en outre l'avantage de pouvoir éventuellement tenir compte d'un certain infléchissement des objectifs de sélection (à cause de modifications d'ordre socio-économiques, par exemple), grâce à la possibilité d'inclure d'autres géniteurs et par conséquent d'introduire une nouvelle variation génétique dans le processus cyclique d'amélioration du matériel de base.

— soit vers un schéma mixte dans lequel la mesure de l'aptitude générale à la combinaison ne ferait pas intervenir un plan factoriel, mais un plan simplement hiérarchisé, analogue au « Design I » de Caroline du Nord (COMSTOCK et ROBINSON, 1952) où les individus mâles seraient croisés avec des échantillons limités de femelles, de composition différente pour chaque mâle. Dans un tel système, le choix des cépages utilisés comme femelles pourrait être orienté en fonction de leur partenaire mâle, de manière à limiter au maximum les effets de consanguinité dans les descendances.

*c*) Le schéma de sélection tel qu'il est proposé repose sur l'existence supposée d'une variance non négligeable d'aptitude générale à la combinaison pour les caractères soumis à sélection, ce qui ne pourra être vérifié qu'à partir des résultats du diallèle initial. Dans le cas où, pour un caractère donné, les composantes de la variance génétique feraient également appel à des effets d'aptitude spécifique, le schéma est parfaitement applicable à une sélection pour une aptitude générale et spécifique à la combinaison (cf. fig. 3).

Dans une telle variante qui s'apparente largement à la sélection récurrente de HULL (1945), les individus $I_1$ issus par autofécondations et sélection individuelle de la population $P_n$, et qui serviront de partenaires mâles aux cépages de la population initiale $P_0$, pour donner la population $P_{n+1}$, ne seront plus sélectionnés pour leur aptitude générale à la combinaison, mais pour leur aptitude générale et spécifique à la combinaison avec un testeur constitué d'un seul cépage pouvant être extrait de la population $P_0$.

Dans ce cas, les problèmes de consanguinité précédemment discutés ne se posent plus, puisque les descendances servant à la mesure de l'aptitude à la combinaison (populations $T_n$, $T_{n+1}$, ...) sont écartées des cycles successifs d'amélioration du matériel de base.

Naturellement, le choix du testeur devient capital. Plusieurs considérations peuvent entrer en ligne de compte :

— Son aptitude générale à la combinaison étant pré-déterminée, comme d'ailleurs celle des autres cépages de la population $P_1$, il y a tout intérêt à choisir celui qui a l'A.G.C. la plus élevée, au vu des résultats du diallèle initial.

— Dans le cas où l'objectif du programme de sélection est de créer des variétés améliorées mais ne s'éloignant pas trop, notamment du point de vue qualitatif, d'un type donné de cépage, le choix de ce cépage comme testeur peut être justifié.

En fait, des résultats expérimentaux récents montrent que chez le Maïs, la méthode de sélection récurrente pour l'aptitude à la combinaison avec un testeur (lignée homozygote ou hybride simple) présente une bonne efficacité même pour des caractères à variance génétique essentiellement additive (HORNER *et al.*, 1976), ce qui permet de changer éventuellement de testeur sans remettre nécessairement en question le gain génétique acquis.

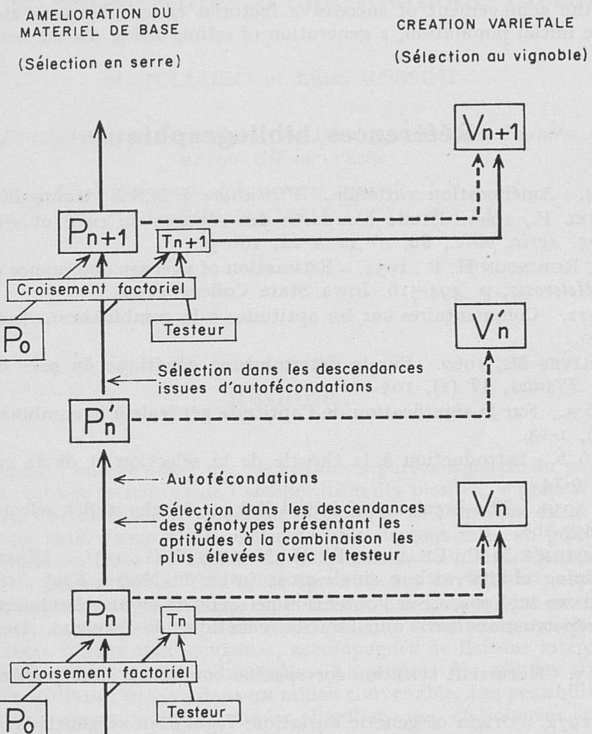



FIG. 3. — *Méthode de sélection récurrente pour une aptitude générale et spécifique à la combinaison avec un testeur.*

Si l'on tient compte également du fait que les efforts dépensés en testage sont moindres, cette méthode apparaît suffisamment souple d'emploi pour que son application à la Vigne soit justifiée, sans qu'il soit naturellement question de la présenter comme une panacée aux problèmes d'amélioration génétique de cette espèce. Mais même si le fruit de ces quelques réflexions devait simplement contribuer à répandre l'idée que la sélection de la Vigne n'est pas obligatoirement redevable d'un empirisme désuet, je pense qu'elles n'étaient pas inutiles.

*Reçu pour publication en avril 1976.*

## Summary

*Genetic improvement of Grape:*
*Definition of a breeding plan applicable to the selection of new cultivars*

A breeding plan applicable to the Grapevine is described. It aims to maximize the genetic variation in a population while allowing an increase of its average value for one or more characters. It is founded up on a rational use of the hydroponic culture of seedlings under greenhouse, which makes possible the achievement of successive factorial crosses between the population under selection and the initial population, a generation of selfing being placed between each cycle of crosses.


## Références bibliographiques


BRANAS J., 1974. Amélioration variétale. *Viticulture* E.N.S.A. Montpellier, 126-171.

BRANAS J., TRUEL P., 1969. Étude comparée des cépages de cuve et sélection des variétés nouvelles. *Prog. agric. vitic.*, **86**, nº 12 à 22, 160 p.

COMSTOCK R. E., ROBINSON H. F., 1952. Estimation of average dominance of genes. In GOWEN J. W. (Ed.). *Heterosis*, p. 494-516. Iowa State College Press.

DEMARLY Y., 1972. Commentaires sur les aptitudes à la combinaison. *Ann. Amélior. Plantes*, **22** (2), 187-200.

DOAZAN J. P., RIVES M., 1967. Sur le déterminisme génétique du sexe dans le genre *Vitis*. *Ann. Amélior. Plantes*, **17** (1), 105-111.

GALLAIS A., 1976 *a*. Sur la signification de l'aptitude générale à la combinaison. *Ann. Amélior. Plantes*, **26** (1), 1-13.

GALLAIS A., 1976 *b*. Introduction à la théorie de la sélection et de la création de variétés. *T.D.R.* (*), **2**, 9-14.

HANSON W. D., 1959. The break-up of initial linkage blocks under selected mating systems. *Genetics*, **44**, 857-868.

HORNER E. S., LUTRICK M. C., CHAPMAN W. H., MARTIN F. G., 1976. Effect of recurrent selection for combining ability with a single-cross tester in Maize. *Crop Sci.*, **16**, 5-8.

HUGLIN P., JULLIARD B., 1964. Sur l'obtention de semis de vigne très vigoureux, à mise à fruits rapide et ses répercussions sur l'amélioration génétique de la vigne. *Ann. Amélior. Plantes*, **14** (3), 229-244.

HULL F. H., 1945. Recurrent selection for specific combining ability in corn. *Agron. J.*, **37**, 134-145.

PANDEY K. K., 1972. Origin of genetic variation: regulation of genetic recombination in the higher organisms. A theory. *Theor. appl. Genet.*, **42**, 250-261.

RIVES M., 1977. Stratégie de l'amélioration de la Vigne. Symposium international sur la Sélection de la Vigne, Geilweilerhof-Siebeldingen (R.F.A.). *Ann. Amélior. Plantes*, **27**, (1), 61-73.

WAGNER R., 1967. Sélection préliminaire en serre de semis de Vigne. *Ann. Amélior. Plantes*, **17** (2), 159-173.

WAGNER R., BRONNER A., 1974. Étude de la fertilité des semis de *Vitis vinifera* : application à la mise au point d'un test précoce de sélection. *Ann. Amélior. Plantes*, **24** (2), 145-157.


---

(*) T.D.R., Bulletin de liaison interne du Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes de l'I.N.R.A., a une circulation restreinte; une copie de l'article cité peut être obtenue en s'adressant au Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes, 11, rue Jean-Nicot, 75007 Paris, ou à l'auteur.

*Ann. Amélior. Plants*, **27** (1), 87-103.

# L'obtention de cellules séparées à partir du tissu foliaire chez les plantes supérieures : intérêt et potentialités d'une méthode mécanique

M. JULLIEN* et Luisa ROSSINI

*Laboratoire de Génétique et Physiologie du Développement des Plantes, C.N.R.S., 91190 Gif-sur-Yvette*

**Laboratoire de Physiologie végétale, I.N.A., 16, rue C.-Bernard, 75231 Paris Cedex 05*

## Résumé

Après avoir exposé l'intérêt offert par les cellules séparées à partir du parenchyme foliaire dans le domaine des cultures *in vitro* et de l'amélioration des plantes, le présent article, de caractère technique, décrit une méthode d'obtention mécanique et aseptique de ce type de cellules, applicable aux plantes supérieures. Cette méthode, initialement mise au point pour *Calystegia sepium*, permet l'obtention aisée et rapide de suspensions cellulaires denses, sans impliquer l'utilisation d'enzymes pectolytiques. Elle a été éprouvée sur environ 200 espèces mais n'a été reconnue utilisable que pour 27 d'entre elles, réparties entre 20 genres dont certains sont d'intérêt agronomique (*Arachis*, *Asparagus*). Ce n'est donc pas une méthode générale : sa réussite est fonction d'une structure foliaire très lacuneuse, accompagnée de liaisons intercellulaires fragiles et d'une grande résistance des parois cellulosiques. La plupart des cellules ainsi obtenues sont viables et capables de se diviser *in vitro* dans un milieu convenable. Les possibilités d'amélioration des résultats en ce qui concerne les Graminées, Papilionacées et Solanées sont discutées.

## Introduction

L'intérêt des cultures de cellules végétales séparées, d'abord limité à des aspects fondamentaux (par exemple : démonstration de la totipotence cellulaire), ne cesse de grandir dans le domaine pratique et particulièrement en amélioration des plantes. Les raisons de cet intérêt croissant tiennent principalement au fait que ces cultures, qui permettent de manipuler de grandes populations cellulaires, constituent un matériel de choix pour la production et la sélection de mutants ou variants. Ainsi, leur utilisation a déjà permis l'obtention de pieds de Tabac très peu sensibles à *Pseudomonas tabaci* (CARLSON, 1973) et des travaux sont en cours

chez les céréales (Riz, Maïs) afin de sélectionner des souches cellulaires mutantes, déréprimées pour la synthèse de certains acides aminés (lysine, thréonine, méthionine), capables par la suite de néoformer des plantes dont les graines auraient des compositions protéiniques mieux équilibrées (Chaleff et Carlson, 1974; Green et Phillips, 1974). D'autres études envisagent l'obtention de plantes plus résistantes aux stress provoqués par l'environnement (salinité, gel). Ainsi, chez *Nicotiana sylvestris* et *Capsicum annuum*, Dix et Street (1975) ont sélectionné des souches cellulaires résistantes à des teneurs élevées de NaCl. Enfin certains travaux récents (Feucht, 1975; Bergounioux, 1976, CV) donnent à penser que l'examen des capacités mitotiques de cellules provenant directement de la plante pourrait être utilisé comme test précoce de vigueur.

La plupart des cellules végétales séparées qui ont déjà été utilisées dans les divers domaines ci-dessus exposés proviennent de cultures de tissus de consistance friable entretenues dans un milieu de culture liquide agité selon les méthodes initialement établies par Muir (1953) et Steward et Shantz (1956). Les derniers perfectionnements de ces techniques ont été décrits récemment par Street (1973). Les cellules séparées ainsi obtenues ont donc déjà subi de longues périodes de culture *in vitro*, ce qui a eu pour conséquence la mise en place de modifications morphologiques, physiologiques (Street, 1966) et surtout génétiques. Ces dernières sont dues à l'instabilité souvent constatée des nombres et des structures chromosomiques des cellules végétales dans les conditions de culture *in vitro* (Sunderland, 1973). Cette instabilité peut être utilisée pour élargir la variabilité génétique des populations d'intérêt agronomique (Coleman, 1970, chez la Canne à sucre), ou pour obtenir le doublement des nombres chromosomiques (Murashige et Nakano, 1966; Nitsch *et al.*, 1969, chez le Tabac). Mais très souvent, ces modifications ont pour conséquence une perte progressive, ou une modification défavorable, des aptitudes organogènes des cellules cultivées durant de longues périodes. Ces pertes de potentialité cellulaire ont été parfois reliées précisément aux perturbations génétiques (Murashige et Nakano, 1967; Sacristan et Melchers, 1969; Smith et Street, 1974). Elles sont extrêmement gênantes, car elles peuvent bloquer totalement l'utilisation des cultures de cellules, comme nous venons de le voir, aujourd'hui envisageable dans les programmes d'amélioration des plantes. Ainsi, Chaleff et Carlson (1974) n'ont pas pu obtenir des plantes entières à partir de leurs lignées cellulaires de Riz résistantes à un analogue de la lysine et ayant une qualité protéinique améliorée, car les cellules utilisées, cultivées *in vitro* trop longtemps, avaient perdu leur totipotence et n'ont pas réagi aux traitements que l'on sait favorables à la néoformation de bourgeons dans les cultures de tissus de Riz fraîchement établies (Nishi *et al.*, 1968). Pour éviter ce blocage, il faudrait utiliser des cellules n'ayant jamais été cultivées *in vitro* et disposant donc de toutes leurs potentialités. De telles cellules ne peuvent être obtenues qu'à partir de tissus en place sur le végétal.

Pour atteindre cet objectif, la feuille semble un organe très favorable car les liaisons intercellulaires y sont généralement fragiles. De plus, le parenchyme assimilateur foliaire est beaucoup plus homogène qu'une culture de tissus en ce qui concerne l'état nucléaire des cellules constitutives car, quand on s'adresse à la feuille adulte, la multiplication cellulaire a cessé depuis longtemps (Sunderland,

1960) et postérieurement à l'arrêt des synthèses d'ADN (MAKSYMOWITCH et KETTRICK, 1970). Cette dernière observation, réalisée sur *Xanthium*, permet de penser que les phénomènes d'endomitose sont peu fréquents dans les cellules du parenchyme foliaire. Ce tissu constitue donc un excellent matériel à condition qu'il soit aisément dissociable.

## Données bibliographiques

La dissociation du tissu foliaire peut s'obtenir au moyen de techniques mécaniques ou enzymatiques. Historiquement, les premières tentatives furent réalisées grâce à des méthodes mécaniques qui nécessitaient la pratique de fines dissections des feuilles (voir pour une revue GAUTHERET, 1959). Ces méthodes, délicates à mettre en œuvre, permettaient certes l'obtention de cellules viables, mais en très petites quantités (BALL et JOSHI, 1965; KOHLENBACH, 1966). Il fallait donc mettre au point des techniques pouvant fournir de grandes populations de cellules libres. RACUSEN et ARONOFF (1953) eurent les premiers l'idée de remplacer ces dissections par un broyage modéré réalisé au moyen d'un homogénéiseur manuel dans une solution tampon. Leur méthode, très commode, appliquée aux feuilles de Soja, fournit de grandes quantités de cellules de viabilité malheureusement très incertaine. Toutefois ROSSINI (1969) démontra pour une autre espèce les grandes potentialités de cette technique. En effet, les feuilles de *Calystegia sepium*, broyées comme ci-dessus mais aseptiquement et dans un milieu favorable aux cultures *in vitro*, fournirent des cellules libres à la fois nombreuses et viables. Il faut enfin signaler que, plus récemment, d'autres méthodes de dissociation mécanique du tissu foliaire ont été utilisées lors d'études relatives au métabolisme photosynthétique (voir pour une revue KULANDAIVELU et GNANAM, 1974). Mais elles n'ont pas été pratiquées aseptiquement, ce qui limite leur intérêt.

Les techniques enzymatiques se sont essentiellement développées après les travaux de TAKEBE *et al.* (1968) sur la feuille de Tabac. Leur principe consiste à faire agir des enzymes pecto- et cellulolytiques commerciaux sur le tissu foliaire fortement plasmolysé. Si les enzymes sont appliqués dans l'ordre indiqué, on obtient d'abord des cellules séparées, puis des protoplastes (cellules débarrassées de leur paroi cellulosique). A l'heure actuelle, ces méthodes enzymatiques sont surtout utilisées pour l'obtention de protoplastes à partir des tissus foliaires de diverses espèces (voir la revue de BAJAJ, 1974). L'intérêt de l'obtention de protoplastes végétaux a été décrit par plusieurs auteurs : CHUPEAU *et al.*, 1973; BAJAJ, 1974. Rappelons que l'absence de parois cellulosiques permet d'envisager des travaux irréalisables avec des cellules séparées : fusions somatiques, incorporations d'organites, de bactéries. Mais en ce qui concerne diverses manipulations, dont l'application de traitements mutagènes et la sélection de souches mutées ou variantes, ils ne présentent aucun avantage par rapport aux cellules séparées et leur fragilité est même un inconvénient sérieux.

Il nous a donc semblé qu'aucune technique de dissociation du tissu foliaire ne devait être négligée et nous avons entrepris une étude systématique des possibilités offertes par la dissociation mécanique chez les plantes supérieures. Nous avons

choisi la méthode de broyage modéré initialement mise au point pour *Calystegia sepium* (ROSSINI, 1969, 1972) et nous l'avons appliquée à un grand nombre d'espèces sans toutefois chercher à la perfectionner pour chaque espèce considérée.

## Matériel et méthodes

### I. — *Matériel végétal*

Les plantes utilisées ont généralement été cultivées dans les serres du Phytotron de Gif-sur-Yvette. Elles reçoivent un éclairement de 16 heures par jour et sont soumises à une température diurne de 24 °C et nocturne de 17 °C. Les graines de nombreuses espèces nous ont été fournies par le service des cultures du Museum national d'Histoire naturelle et le Jardin botanique des villes de Dijon et Strasbourg. La plupart des essais sur Orchidées ont été réalisés à partir de la collection du Laboratoire de Physiologie végétale de l'I.N.R.A., à Versailles. Sauf exceptions (*Asparagus officinalis, Calystegia sepium, Nicotiana Tabacum*), pour une espèce donnée les essais n'ont été réalisés que sur quelques individus.

### II. — *Dissociation du tissu foliaire*

1. — *Milieu de dissociation*

Le broyage du tissu foliaire est réalisé dans un milieu liquide constitué des macroéléments de LIN et STABA (1961), des oligoéléments de NITSCH (1968), et des vitamines de NITSCH et NITSCH (1968). Le fer est apporté sous la forme d'une solution contenant 7,45 g/l de sel disodique de l'acide éthylènediaminetétracétique et 5,57 g/l de $FeSO_4$, 7 $H_2O$, à raison de 5 ml/l de milieu. On ajoute 10 g/l de saccharose et le pH est ajusté à 5,5 avant passage à l'autoclave. Enrichi en régulateurs de croissance (auxine et cytokinine), ce milieu peut être également utilisé pour la culture *in vitro* des cellules séparées.

2. — *Dissociation*

Lorsque la manipulation est réalisée aseptiquement, le pétiole est trempé dans de la paraffine fondue afin d'éviter toute pénétration des liquides désinfectants. Les feuilles sont alors passées rapidement dans de l'éthanol, puis désinfectées 15 à 20 minutes dans une solution à 7 p. 100 d'hypochlorite de calcium fraîchement préparée. Les feuilles : environ 2 g de matière fraîche, sont débarassées de l'hypochlorite par deux rinçages successifs à l'eau distillée stérile. Elles sont ensuite découpées aseptiquement en fragments d'environ 25 mm². Les grosses nervures, lorsqu'elles existent, sont éliminées. Ces fragments de feuille sont broyés dans un ou plusieurs homogénéiseurs du type POTTER-ELVEHJEN contenant 10 ml du milieu liquide décrit précédemment, jusqu'à ce qu'ils « disparaissent » (fig. 1 A). On obtient ainsi, lorsque le matériel végétal s'y prête, une suspension contenant une grande quantité de cellules et d'amas cellulaires, mélangés à divers débris (fig. 1 B). Cette suspension est alors filtrée sur deux tamis métalliques superposés présentant des mailles, respectivement de 0,061 et 0,038 mm (fig. 1 C). Le rinçage de ces derniers avec du milieu liquide permet l'obtention de volumes déterminés (en général 100 ml) de suspension initiale ne contenant que des cellules libres

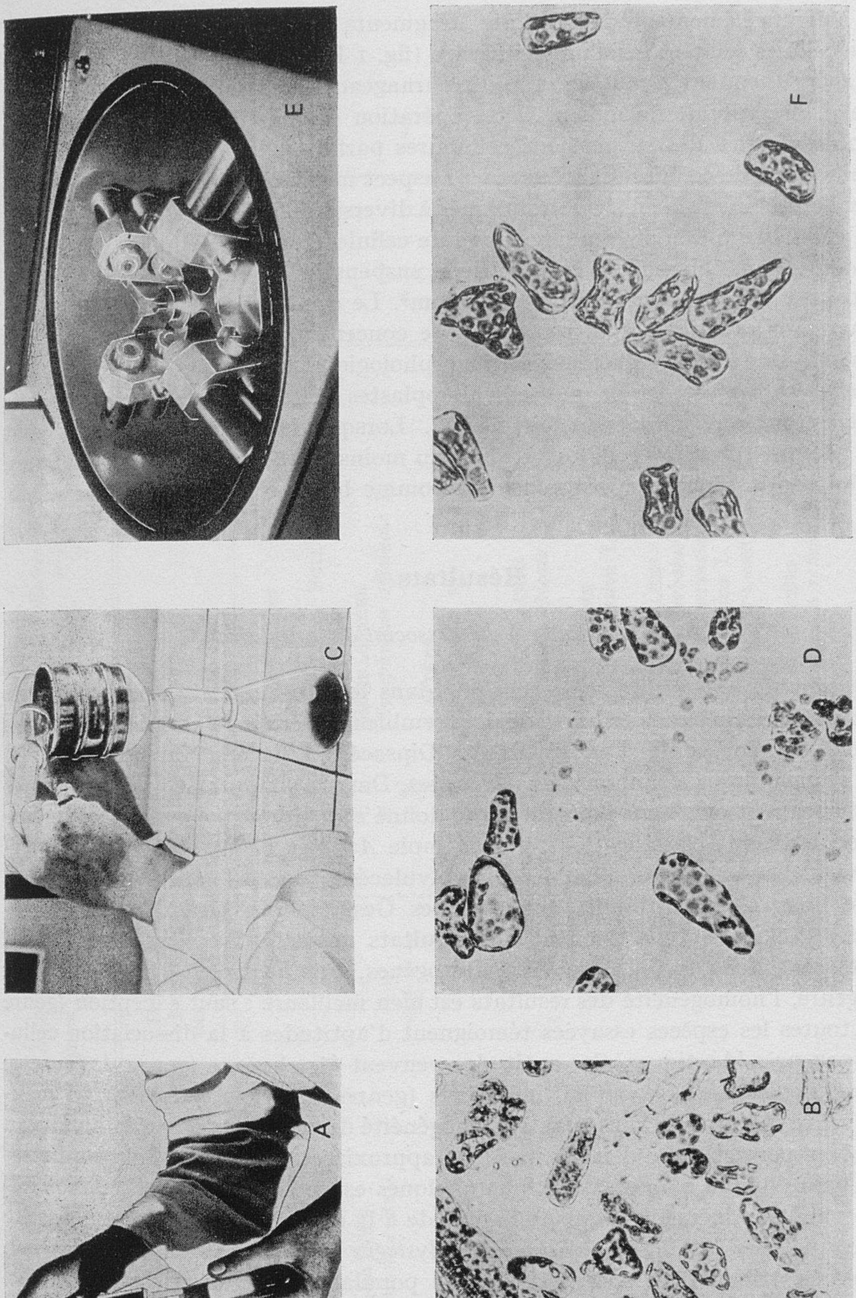



FIG. 1. — *Mise en œuvre de la méthode mécanique de séparation des cellules du parenchyme foliaire : Application à* Calystegia sepium.
(Les commentaires sont dans le texte.)

mêlées à divers éléments de petite taille : fragments de parois, organites cellulaires, issus de cellules éclatées pendant le broyage (fig. 1 D). Cette suspension est centrifugée (400 g) pendant 5 mn (fig. 1 E), le surnageant est éliminé et le culot repris avec le même volume de milieu. Cette opération est répétée une deuxième fois et on obtient ainsi des suspensions cellulaires parfaitement propres (fig. 1 F).

Le nombre de cellules séparées et leur aspect morphologique nous permettent de juger l'efficacité de la méthode, appliquée à diverses plantes. Pour cela, la concentration cellulaire totale et le pourcentage de cellules morphologiquement intactes sont évalués dans une partie aliquote de la suspension à l'aide d'un hématimètre de MALASSEZ dont le volume utile est 1 $mm^3$. Le coefficient de variation de ces comptages est d'environ 3 p. 100 pour une concentration moyenne de $6 \times 10^5$ cellules/ml. Une cellule est considérée morphologiquement intacte, donc vivante, lorsqu'elle est turgescente et que ses chloroplastes restent régulièrement répartis dans le cytoplasme pariétal (voir fig. 2). Lorsque les valeurs obtenues sont élevées : de $5 \times 10^4$ à $10^6$ cellules/ml dont au moins 40 p. 100 de cellules vivantes, le résultat de la séparation est considéré comme bon.

## Résultats

### 1. — *Aptitude à la dissociation cellulaire*

L'ensemble des résultats est consigné dans le Tableau 1. Les possibilités de séparation mécanique des cellules foliaires semblent réservées à certaines familles : Caryophyllées, Composées, Convolvulacées, Dipsacées, Liliacées, Malvacées, Ombellifères, Papaveracées, Papilionacées, Rosacées. Dans la plupart de ces familles, les résultats peuvent être bons pour un genre donné et mauvais pour un autre, même très proche dans la classification : par exemple *Aster* et *Bellis*, *Anthemis* et *Chrysanthemum*. Par exception, chez les Convolvulacées, tous les genres essayés donnent de bons résultats tandis que chez les Gesnériacées, Graminées, Labiées, Orchidées, Solanées, tous donnent des résultats négatifs. Dans une famille, les résultats sont donc le plus souvent hétérogènes. Par contre, à l'intérieur d'un même genre, l'homogénéité des résultats est bien meilleure : sauf exception (genre *Aster*), toutes les espèces essayées témoignent d'aptitudes à la dissociation cellulaire à peu près identiques. Ces aptitudes peuvent être bonnes (genre *Asparagus*, *Scabiosa*, *Convolvulus*, *Papaver*), médiocres (genres *Malus*, *Penstemon*) ou mauvaises (genre *Nicotiana*, *Coreopsis*). L'homogénéité des résultats observés au niveau des espèces permet donc d'avoir une idée approximative des possibilités offertes par un genre donné en n'essayant que quelques espèces de ce genre. Les possibilités de variation intraspécifique de l'aptitude à la dissociation cellulaire n'ont été étudiées que chez *Asparagus officinalis*, *Calystegia sepium* et *Nicotiana Tabacum*. Nous avons utilisé des Asperges issues de populations commerciales différentes (Marché de Malines, Argenteuil, Mary Washington), des liserons des haies provenant d'écotypes variés et plusieurs variétés de Tabac (« Consolation », « Coulo », « Red Flowered », « Samson », « Wisconsin 38 ») sans noter de variations considérables de l'aptitude, très bonne pour l'Asperge et le Liseron, très mauvaise pour le Tabac. A l'intérieur de ces trois espèces, les résultats sont donc homogènes.

TABLEAU I

*Essais de séparation mécanique des cellules foliaires de quelques plantes supérieures*

*La suspension contient:* +++++, ++++ *de très nombreuses cellules;* +++, + *quelques cellules;* o *aucune cellule*

| | Degré de séparation des cellules | Pourcentage de cellules intactes |
|---|---|---|
| ABIETINÉES | | |
| *Pseudotsuga douglasii* Mayr. | o | o |
| ACANTHACÉES | | |
| *Pachystachus lutea* Nees. | o | o |
| *Thunbergia natalensis* Retz | o | o |
| *Thunbergia* sp. | ++++ | 5 % |
| ACÉRACÉES | | |
| *Acer pseudoplatanus* L. | o | o |
| AIZOACÉES | | |
| *Tetragonia expansa* Murr. | + | o |
| AMARANTACÉES | | |
| *Amarantus edulis* L. | o | o |
| AMARYLLIDACÉES | | |
| *Agapanthus umbellatus* L'Her | o | o |
| *Narcissus pseudonarcissus* L. | +++ | < 5 % |
| AMPÉLIDÉES | | |
| *Vitis vinifera* L. | o | o |
| ARACÉES | | |
| *Amorphophallus Rivieri* Dur. | o | o |
| *Philodendron giganteum* Schott. | o | o |
| BALSAMINÉES | | |
| *Impatiens balsamina* L. | o | o |

| | Degré de séparation des cellules | Pourcentage de cellules intactes |
|---|---|---|
| BEGONIACÉES | | |
| *Begonia* sp. | o | o |
| *Begonia rex* Putz | o | o |
| BORRAGINÉES | | |
| *Symphytum officinale* L. | o | o |
| CACTÉES | | |
| *Epiphyllum* sp. | o | o |
| *Opuntia* sp. | o | o |
| CAMPANULACÉES | | |
| *Phyteuma spicata* L. | +++++ | 40 % |
| CANNABINÉES | | |
| *Cannabis sativa* L. | o | o |
| CARYOPHYLLÉES | | |
| *Dianthus barbatus* L. | +++++ | 40 % |
| *Dianthus carthusianorum* L. | +++ | 10 % |
| *Lychnis dioica* L. | o | o |
| *Lychnis flos-cuculi* L. | o | o |
| COMMÉLINACÉES | | |
| *Tradescantia reflexa* Raf. | o | o |
| COMPOSÉES | | |
| *Achillea filipendulina* Lam. | +++ | o |
| *Anthemis tinctoria* L. | +++++ | 30-40 % |
| *Artemisia vulgaris* L. | ++++ | < 5 % |

TABLEAU I (*suite*)

| | Degré de séparation des cellules | Pourcentage de cellules intactes |
|---|---|---|
| *Aster alpinus* L. | +++ | o |
| *Aster novae-angliae* L. | +++++ | 50-70 % |
| *Bellis perennis* L. | o | o |
| *Calendula arvensis* L. | o | o |
| *Centaurea cyanus* L. | o | o |
| *Centaurea imperialis* L. | o | o |
| *Centaurea jacea* L. | +++ | < 5 % |
| *Chrysanthemum morifolium* Ramat. | o | o |
| *Cichorium intybus* L. | o | o |
| *Coreopsis auriculata* L. | o | o |
| *Coreopsis drummondi* Bolake | o | o |
| *Coreopsis tinctoria* Nutt. | o | o |
| *Crepis capillaris* L. | o | o |
| *Crepis rubra* L. | + | o |
| *Erigeron acris* L. | +++ | < 5 % |
| *Gaillardia* sp. | + | o |
| *Gerbera Jamesonii* Bolus | o | o |
| *Hieracium* sp. | o | o |
| *Lactuca sativa* L. | o | o |
| *Leucanthemum vulgare* Lom. | + | o |
| *Scorzonera hispanica* L. | o | o |
| *Senecio vulgaris* L. | o | o |
| *Stevia* sp. | o | o |
| *Tagetes erecta* L. | o | o |
| *Zinnia elegans* Jacq. | ++++ | 20-30 % |
| CONVOLVULACÉES | | |
| *Calystegia sepium* L. | +++++ | 50-60 % |
| *Convolvulus arvensis* L. | ++++ | 10-20 % |
| *Convolvulus cantabrica* L. | +++++ | 50-60 % |
| *Convolvulus siculus* L. | ++++ | 20-30 % |
| *Convolvulus tricolor* L. | ++++ | 10-20 % |
| *Ipomoea Batatas* Lam. | +++++ | 50-60 % |
| *Ipomoea hederacea* Jacq. | +++++ | 50-60 % |
| *Quamoclit coccinea* L. Moench. | +++++ | 50-60 % |
| CRASSULACÉES | | |
| *Bryophyllum daigremontiana* Hamet et Perrier. | o | o |
| CRUCIFÈRES | | |
| *Alliaria officinalis* Andrz. | o | o |
| *Brassica napus* L. | o | o |
| *Brassica oleracea* L. | o | o |
| *Isatis tinctoria* L. | + | o |
| CUCURBITACÉES | | |
| *Bryonia dioica* L. | +++ | < 5 % |
| CUPRESSINÉES | | |
| *Cupressus fastigiata* Hansen | ++++ | < 5 % |
| CUPULIFÈRES | | |
| *Carpinus betulus* L. | o | o |
| *Castanea vulgaris* Mill. | ++++ | < 5 % |
| DIOSCORÉES | | |
| *Dioscorea Batatas* Decne | o | o |
| *Dioscorea* sp. | o | o |
| DIPSACÉES | | |
| *Cephalaria syriaca* Schrad. | +++ | 20-30 % |
| *Dipsacus fullorum* L. | o | o |
| *Knautia arvensis* Coult. | o | o |

| | | |
|---|---|---|
| *Scabiosa astropurpurea* L. | +++++ | 40-50 % |
| *Scabiosa columbaria* L. | +++++ | 40-50 % |
| *Scabiosa maritima* L. | +++++ | 40-50 % |
| *Succisella inflexa* Beck. | o | o |
| EQUISETACÉES | | |
| *Equisetum arvense* L. | o | o |
| EUPHORBIACÉES | | |
| *Buxus sempervirens* L. | + | 30-40 % |
| FOUGÈRES | | |
| *Adiantum* sp. | o | o |
| *Asplenium viviparum* L. | o | o |
| *Diplasum proliferum* L. | o | o |
| *Platycerium* sp. | o | o |
| *Pteris aquilena* L. | o | o |
| FUMARIACÉES | | |
| *Corydallis lutea* D.C. | o | o |
| GERANIÉES | | |
| *Pelargonium zonale* L. | o | o |
| GESNÉRIACÉES | | |
| *Achimenes grandiflora* D.C. | o | o |
| *Kohleria amabilis* Fritsch. | o | o |
| *Saintpaulia ionantha* Wendl. | o | o |
| *Smithiantha multiflora* Fritsch. | o | o |
| *Streptocarpus nobilis* Lindl. | o | o |
| GRAMINÉES | | |
| *Oryza sativa* L. | o | o |
| *Pennisetum typhoides*. | o | o |
| *Saccharum officinarum* L. | o | o |
| *Triticum sativum* L. | o | o |
| *Zea Mays* L. | o | o |
| ILICINÉES | | |
| *Ilex aquifolium* L. | o | o |
| LABIÉES | | |
| *Ajuga reptans* L. | o | o |
| *Melittis melissophyllum* L. | o | o |
| *Mentha rotundifolia* L. | o | o |
| *Stachys silvatica* L. | o | o |
| LENTIBULARIÉES | | |
| *Pinguicula vulgaris* L. | o | o |
| LILIACÉES | | |
| *Allium cepa* L. | o | o |
| *Asparagus falcatus* L. | +++++ | 50-60 % |
| *Asparagus officinalis* L. | +++++ | 50-70 % |
| *Asparagus Sprengeri* Regel. | +++++ | 50-70 % |
| *Convallaria maialis* L. | o | o |
| *Endymion nutans* Dum. | +++ | 20-30 % |
| *Hyacinthus orientalis* L. | +++ | 5-10 % |
| *Lilium* sp. | o | o |
| *Ornithogalum thyrsoides* Hacq. | +++ | 10-20 % |
| *Scilla bifolia* L. | + | < 5 % |
| LINÉES | | |
| *Linum usitatissimum* L. | +++ | < 5 % |
| MALVACÉES | | |
| *Althaea rosea* L. | +++++ | 10-20 % |
| *Gossypium hirsutum* L. | o | o |
| *Hibiscus palustris* L. | o | o |
| *Malva rotundifolia* L. | ++++ | 5 % |
| MYRTACÉES | | |
| *Eucalyptus camaldulensis* Dehnhardt. | o | o |
| OMBELLIFÈRES | | |
| *Amni visnaga* Lam. | +++++ | 20-30 % |
| *Chaerophyllum temulum* L. | o | o |
| *Coriandrum sativum* L. | +++ | < 5 % |
| *Daucus aureus* L. | +++++ | 20-30 % |
| *Daucus carota* L. | +++++ | 20-30 % |
| *D. carota* var. *gummifer* | +++ | < 5 % |
| *Didiscus caerulea* Hook. | + | o |

TABLEAU 1 (*suite*)

| | Degré de séparation des cellules | Pourcentage de cellules intactes |
|---|---|---|
| ONAGRACÉES | | |
| *Œnothera biennis* L. | +++ | 10-20 % |
| ORCHIDÉES | | |
| *Bletilla striata* Reichb. | 0 | 0 |
| *Cattleya* sp. | 0 | 0 |
| *Cymbidium* sp. | 0 | 0 |
| *Maxillaria* sp. | 0 | 0 |
| *Oncidium* sp. | 0 | 0 |
| *Zygopetalum mackayi* Hook. | 0 | 0 |
| OXALIDACÉES | | |
| *Oxalis corniculata* L. | + | 0 |
| PAPAVERACÉES | | |
| *Argemone mexicana* L. | 0 | 0 |
| *Chelidonium majus* L. | 0 | 0 |
| *Dicranostigma franchetianum* (Prain) Fedde | 0 | 0 |
| *Eschscholzia californica* Cham. | 0 | 0 |
| *Glaucium corniculatum* J. H. Rudolph | 0 | 0 |
| *Hypecoum procumbens* L. | + | < 5 % |
| *Papaver rhoeas* L. | +++++ | 40-50 % |
| *Papaver alpinum* L. | +++ | 20-30 % |
| *Papaver somniferum* L. | +++ | 10-20 % |
| *Roemeria rhaedifolia* Boiss. | + | < 5 % |
| PAPILIONACÉES | | |
| *Arachis hypogaea* L. | +++++ | 40-50 % |
| *Erythrina herbacea* L. | +++++ | 20-30 % |
| *Glycine hispida* Maxim. | +++++ | < 5 % |
| *Lathyrus odoratus* L. | 0 | 0 |
| *Lotus corniculatus* L. | +++ | 5-10 % |
| *Lupinus luteus* L. | +++ | 5-10 % |
| *Medicago sativa* L. | +++ | < 5 % |
| *Pachyrrhizus tuberosus* Spreng. | +++ | 0 |
| *Phaseolus vulgaris* L. | 0 | 0 |
| *Pisum sativum* L. | 0 | 0 |
| *Trifolium pratense* L. | 0 | 0 |
| *Vicia Faba* L. | 0 | 0 |
| *Vicia sepium* L. | + | < 5 % |
| PASSIFLORACÉES | | |
| *Passiflora gracilis* Hacq. | 0 | 0 |
| PLANTAGINACÉES | | |
| *Plantago major* L. | 0 | 0 |
| PLUMBAGINÉES | | |
| *Plumbago indica* L. | +++ | 5-10 % |
| POLYGALÉES | | |
| *Polygala vulgaris* L. | +++ | 5-10 % |
| POLYGONÉES | | |
| *Rumex acetosa* L. | 0 | 0 |
| PRIMULACÉES | | |
| *Primula grandiflora* Lam. | 0 | 0 |
| RENONCULACÉES | | |
| *Aquilegia vulgaris* L. | +++ | < 5 % |
| *Ficaria ranunculoides* Moench. | 0 | 0 |
| *Ranunculus acris* L. | 0 | 0 |

| | | |
|---|---|---|
| *Ranunculus graminifolius* L. . . . . | o | o |
| *Ranunculus sceleratus* L. . . . . . . | o | o |
| ROSACÉES | | |
| *Alchemilla arvensis* Scop. . . . . . | +++ | 5-10 % |
| *Fragaria vesca* L. . . . . . . . . . | +++++ | 30-40 % |
| *Geum urbanum* L. . . . . . . . . | o | o |
| *Malus communis* Mill. . . . . . . . | +++ | 5-10 % |
| *Malus pumila* Schneid. . . . . . . | +++ | 5-10 % |
| *Persica vulgaris* Mill. . . . . . . | +++++ | 30-40 % |
| *Pyrus communis* L. . . . . . . . . | +++ | 20-30 % |
| *Rubus fruticosus* L. . . . . . . . . | o | o |
| *Rosa* sp. . . . . . . . . . . . . | +++ | < 5 % |
| RUBIACÉES | | |
| *Coffea arabica* L. . . . . . . . . . | o | o |
| *Galium aparine* L. . . . . . . . . | +++ | < 5 % |
| RUTACÉES | | |
| *Ruta graveolens* L. . . . . . . . . | +++ | < 5 % |
| SALSOLACÉES | | |
| *Beta vulgaris* L. . . . . . . . . . | o | o |
| *Chenopodium amaranticola* Coste et Reyn. . . . . . . . . . . . . | o | o |
| *Chenopodium* sp. . . . . . . . . | o | o |
| *Spinacia oleracea* L. . . . . . . . | o | o |
| SCROFULARINÉES | | |
| *Antirrhinum majus* L. . . . . . . . | +++ | o |
| *Digitalis purpurea* L. . . . . . . . | o | o |
| *Mimulus cardinalis* Dougl. . . . . . | o | o |
| *Penstemon alpinus* Torr. . . . . . . | +++ | o |
| *Penstemon digitalis* Nutt. . . . . . | +++ | o |
| *Scrofularia nodosa* L. . . . . . . . | o | o |
| *Veronica chamaedrys* L. . . . . . . | o | o |
| SOLANÉES | | |
| *Atropa Belladona* L. . . . . . . . | o | o |
| *Browallia grandiflora* Crah. . . . . . | o | o |
| *Capsicum annuum* L. . . . . . . . | o | o |
| *Cestrum diurnum* L. . . . . . . . | o | o |
| *Cyphomandra betacea* Sendt. . . . . | o | o |
| *Datura innoxia* Mill. . . . . . . . | o | o |
| *Datura metel* L. . . . . . . . . . | o | o |
| *Lycopersicon esculentum* Mill. . . . . | o | o |
| *Nicotiana alata* Link et Otto. . . . | o | o |
| *Nicotiana Forgetiana* Sander . . . . | o | o |
| *Nicotiana glauca* Crah. . . . . . . | o | o |
| *Nicotiana Langsdorffii* Schrank . . . | o | o |
| *Nicotiana rustica* L. . . . . . . . | o | o |
| *N. sylvestris* Spegazzini et Comes. . | o | o |
| *N. Tabacum* L. . . . . . . . . . | o | o |
| *Petunia hybrida* Viln. . . . . . . . | o | o |
| *Physalis peruviana* L. . . . . . . . | o | o |
| *Solanum dulcamara* L. . . . . . . . | o | o |
| *Solanum esculentum* Ness. . . . . . | o | o |
| *Solanum tuberosum* L. . . . . . . . | o | o |
| STERCULIACÉES | | |
| *Theobroma cacao* L. . . . . . . . . | o | o |
| *Cola acuminata* Schott et Endl. . . . | o | o |
| TILIACÉES | | |
| *Tilia sylvestris* Desf. . . . . . . . . | +++++ | 20-30 % |
| VIOLARIÉES | | |
| *Viola odorata* L. . . . . . . . . . . | +++++ | 20-30 % |

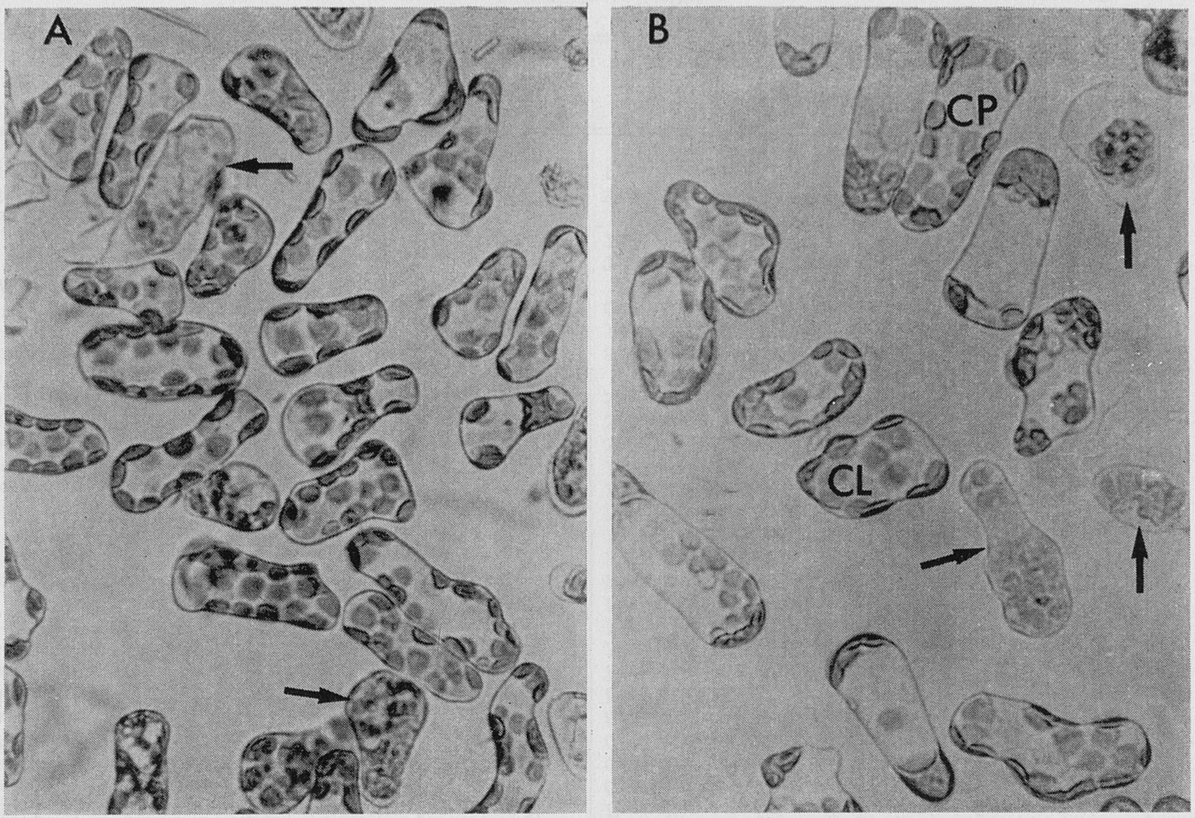



FIG. 2. — *Aspect de suspensions cellulaires obtenues par broyage ménagé du tissu foliaire* (× 250).

Chez A) *Asparagus officinalis*, L.
Chez B) *Scabiosa maritima*, L.

La séparation cellulaire est excellente; les flèches indiquent quelques cellules lésées. Dans le cas de *S. maritima* la suspension est constituée de cellules issues des tissus palissadiques (CP) ou lacuneux (CL).

2. — *État des cellules obtenues*

En général, une bonne séparation cellulaire va de pair avec un fort pourcentage de cellules intactes. Mais il faut toutefois remarquer que, dans quelques cas, si la densité des suspensions cellulaires obtenues est élevée ($5 \times 10^4$ à $10^6$ cellules/ml), le pourcentage de cellules intactes est faible. Il en est ainsi pour *Artemisia vulgaris, Convolvulus tricolor, C. arvensis, Castanea vulgaris, Glycine hispida.* La figure 2 donne un aperçu de l'aspect morphologique des suspensions obtenues lorsque la séparation des cellules est bonne. Ces suspensions apparaissent parfois constituées de deux types cellulaires morphologiquement bien distincts, par exemple dans le cas de *Scabiosa maritima* (fig. 2 B) : longues cellules tubulaires d'une part et cellules de forme irrégulière, lobée, d'autre part. Ces différences sont à mettre en relation avec la dorsiventralité des feuilles, assez commune chez les dicotylédones. La méthode de séparation utilisée libère donc les cellules parenchymateuses des deux types de tissus : palissadique et lacuneux, lorsqu'ils existent dans la feuille.

L'examen du tableau montre que 27 espèces nous ont fourni des suspensions cellulaires denses contenant un taux élevé de cellules intactes. Pour 14 d'entre elles ce taux dépasse 40 p. 100. Ce sont : *Arachis hypogaea, Aster novae-angliae, Asparagus falcatus, A. officinalis, A. Sprengeri, Calystegia sepium, Convolvulus cantabrica, Ipomoea Batatas, I. hederifolia, Quamoclit coccinea, Papaver rhoeas, Scabiosa maritima, S. astropurpurea, S. columbaria.* Chez les 13 autres, ce taux varie de 20 à 40 p. 100. Ce sont : *Amni visnaga, Anthemis tinctoria, Convolvulus siculus, Daucus aureus, D. carota, Dianthus barbatus, Erythrina herbacea, Fragaria vesca, Persica vulgaris, Phyteuma spicata, Tilia sylvestris, Viola odorata* et *Zinnia elegans.* Remarquons que deux de ces espèces (*P. vulgaris, T. sylvestris*) sont des plantes ligneuses.

Les données rapportées pour ces 27 espèces ne sont pas nécessairement les meilleures que l'on puisse obtenir. Nous avons en effet constaté, pour *Asparagus officinalis* et *Calystegia sepium* que le taux de cellules vivantes parmi les cellules séparées pouvait varier de 40 à 70 p. 100 en fonction de l'âge des tissus foliaires et de l'état physiologique de la plante, sans que la concentration cellulaire obtenue pour 2 g de tissu broyé soit sensiblement modifiée. Ce taux semble donc être un caractère peu spécifique soumis à des facteurs physiologiques. Nous n'avons pas pu contrôler précisément ces facteurs pour toutes les espèces utilisées, aussi les résultats obtenus sont-ils certainement perfectibles.

## Discussions et conclusions

Pour déterminer quels sont les facteurs responsables de la réussite ou de l'échec de la méthode ici décrite on peut se rapporter : 1° aux travaux de HARADA et OKUZUMI (1973) et à ceux de ROSSINI (1975) qui ont examiné la structure foliaire de quelques plantes donnant d'excellents résultats comme *Asparagus officinalis, Calystegia sepium* et *Ipomoea hederifolia* et l'ont comparée à celle d'une plante dont les feuilles ne se prêtent pas du tout à la séparation mécanique de leurs cellules : *Anthirrhinum majus.* Chez les trois premières espèces citées cette structure est très

lacuneuse, tandis que les surfaces de jonction entre cellules sont réduites. Par contre, chez *A. majus* la structure foliaire est beaucoup plus compacte. Une structure foliaire fragile est donc une condition favorable à la réussite de la méthode; 2° à ceux d'OTSUKI et TAKEBE (1969) et HARADA (1973) qui ont constaté que les cellules foliaires de certaines espèces (*Calystegia sepium, Ipomoea Batatas, I. hederifolia* et *Zinnia elegans*) sont très difficilement transformables en protoplastes car leurs parois cellulosiques résistent à l'attaque d'une large gamme de préparations cellulolytiques commerciales, généralement très efficaces. Or ces espèces se prêtent parfaitement à la séparation mécanique. Il semble donc qu'il existe une relation entre la solidité des parois cellulosiques et l'aptitude à la dissociation mécanique. Toutefois MACKENZIE *et al.* (1973) ont montré que les cellules d'Asperge se transformaient aisément en protoplastes, ce qui amène à tempérer cette affirmation. On peut donc dire que la réussite de la méthode tient à une structure foliaire très fragile, probablement associée à une grande solidité des parois cellulosiques; ces deux caractères conjugués permettent aux cellules de résister aux chocs provoqués par le broyage.

Les résultats obtenus avec trois familles de grand intérêt agronomique : Graminées, Papilionacées, Solanées, méritent quelques commentaires. Il apparaît que la structure foliaire des Papilionacées se prête parfois assez bien au broyage modéré. En effet, la séparation cellulaire très mauvaise pour *Pisum sativum, Phaseolus vulgaris* et *Vicia faba,* médiocre pour *Lupinus luteus* et *Lotus corniculatus* devient excellente chez *Glycine hispida* et surtout *Arachis hypogaea.* Au vu de cette hétérogénéité de réponse, il semble qu'une investigation plus poussée mériterait d'être faite au sein de cette famille. Elle devrait permettre : 1° d'élargir le nombre d'espèces et variétés essayées en incluant toutes celles présentant un intérêt agronomique, afin de recenser les espèces qui, comme l'Arachide, pourraient supporter la méthode utilisée; 2° d'améliorer les résultats obtenus, surtout au niveau de la viabilité des cellules séparées (par exemple chez le Soja) en tenant compte de l'état physiologique de la plante et en essayant de mettre au point un milieu de broyage plus spécifique.

En ce qui concerne Solanées et Graminées, l'uniformité des résultats négatifs observés ne laisse pas grand espoir. L'échec, chez les Solanées, tient probablement à la trop grande fragilité des parois cellulosiques tandis que, chez les Graminées, il est plutôt consécutif à la structure foliaire particulière, très résistante, est à la richesse en inclusions cristallines qui lèsent les cellules au moment du broyage.

L'accent mis sur ces deux dernières familles souligne à l'évidence que la méthode mécanique étudiée n'est, dans l'état actuel, applicable qu'à un nombre restreint d'espèces et ne peut être considérée comme une méthode générale d'obtention de cellules foliaires dissociées. Lorsqu'elle se révèle inefficace, la séparation des cellules exigera l'utilisation de techniques enzymatiques (USUI et TAKEBE, 1969; JULLIEN, 1971) ou éventuellement une combinaison de méthodes mécanique et enzymatique analogue à celle réalisée par CHEN *et al.* (1974) pour *Cyperus rotundus* (Cyperacées).

Toutefois, appliquée aux espèces pouvant la supporter la méthode mécanique décrite est bien préférable aux méthodes enzymatiques car elle permet d'obtenir très rapidement des quantités considérables de cellules, sans impliquer l'utilisa-

tion de préparations pecto- et cellulolytiques commerciales, longues à mettre en œuvre, coûteuses et fréquemment toxiques pour les cellules.

Nos travaux montrent que 27 espèces réparties dans 20 genres peuvent fournir avec facilité des cellules foliaires séparées dont nous avons étudié la viabilité. L'intégrité morphologique à l'examen microscopique, que nous avons retenu en première approximation, est une condition nécessaire mais non suffisante pour assurer la viabilité des cellules séparées, car elle ne permet pas d'affirmer que les systèmes métaboliques cellulaires sont capables de fonctionner. Seule l'analyse biochimique ou la culture *in vitro* permettent de l'assurer. Par exemple JENSEN *et al.* 1971, FRANCKI *et al.* 1971 considèrent que la fixation de $CO^2$ marqué, accompagnée de l'absorption et de l'incorporation d'acides aminés et d'uracile, respectivement dans les protéines et les ARN des cellules foliaires séparées, est un critère définitif de viabilité. Pour notre part, nous croyons que l'aptitude à enclencher une activité mitotique soutenue dans un milieu de culture convenable est également une preuve irréfutable de la viabilité des cellules. Une telle aptitude a été démontrée chez les cellules foliaires de *Calystegia sepium* (ROSSINI, 1969, 1972), *Asparagus officinalis* (JULLIEN, 1973), *Arachis hypogaea, Aster novae-angliae, Convolvulus cantabrica, Ipomoea Batatas* (JULLIEN, 1975) et *Zinnia elegans* (KOHLENBACH et SCHMIDT, 1975), séparées grâce à la méthode ici étudiée. Pour ce qui est d'*Asparagus officinalis,* il a même été possible d'obtenir des plantes entières à partir des cellules foliaires (JULLIEN, 1974). Ces résultats prouvent amplement la valeur de la méthode mécanique de séparation décrite pour les plantes ci-dessus considérées.

*Reçu pour publication en mai 1976.*

## Summary

*Isolation of mesophyll cells from higher plant leaves: advantages and potentialities of a mechanical method*

After having pointed out the interest of separated mesophyll cells for *in vitro* culture and plant breeding, the present paper, of technical character, describes a method for sterile mechanical dissociation of leaf parenchyma cells from higher plants. This method, first established for *Calystegia sepium,* easily yields good cellular suspension, without implying the use of pectinases. It was tested on about 200 species among which only 27 from 20 different genera gave good results; some of them are of agronomic interest (*Arachis*, *Asparagus*). So this method is not always usable and the success depends upon the anatomy of the leaves. They should have a spongy structure with loosely connected cells and strong cell walls. Most of the cells dissociated by this method are viable and can divide *in vitro* when cultured in suitable conditions. The possibilities of getting better results, with the Gramineae, Papilionaceae and Solaneae, are discussed.

## Références bibliographiques

BAJAJ Y. P. S., 1974. Potentials of protoplast culture work in agriculture. *Euphytica*, **23**, 633-649.

BALL E. JOSHI P. C., 1965. Divisions in isolated cells of palisade parenchyma of *Arachis hypogaea. Nature*, **207**, 213-214.

CARLSON P. S., 1973. Methionine sulfoximine resistant mutant of Tobacco. *Science*, **180**, 1366-1368.

CHALEFF R. S., CARLSON P. S., 1974. *In vitro* selection for mutants of higher plants: In *Genetic manipulation with plant material*. Edit. L. Ledoux, Plenum Press, New York, 351-363.

CHEN T. M., DITTRICH P., CAMPBELL W. H., BLACK C. C., 1974. Metabolism of epidermal tissues, mesophyll cells, and bundle sheath strands resolved from mature nutsedge leaves. *Arch. Biochem. Biophys.*, **163**, 246-262.

CHUPEAU Y., BOURGIN J. P., MISSONIER C., MOREL G., 1973. Les protoplastes de plantes supérieures. État actuel et perspectives. *Bull. Soc. bot. Fr.*, **120**, 175-188.

COLEMAN R. E., 1970. New Plants produced from callus tissue culture. *Sugarcane Res.*, 1970, *Report*, ARS USDA 38.

DIX P. J., STREET H. E., 1975. Sodium chloride-resistant cultured cell lines from *Nicotiana sylvestris* and *Capsicum annuum*. *Plant. Sci. Lett.*, **5**, 231-237.

FEUCHT W., 1975. Zellteilungspotential von Sprossexplantaten bei Prunusarten mit unterschiedlicher Wüchsstärke. *Garbenbauwissenschaft*, **6**, 253-257.

FRANCKI R. I. B., ZAITLIN M., JENSEN R. G., 1971. Metabolism of separated leaf cells. II. Uptake and incorporation of protein and ribonucleic acid precursors by Tobacco cells. *Plant Physiol.*, **48**, 14-18.

GAUTHERET R. J., 1959. Cultures de cellules isolées. In : *La culture des tissus végétaux*. Masson, Paris, 722-730.

GREEN C. E., PHILLIPS R. L., 1974. Potential selection system for mutants with increased lysine, threonine, and methionine in cereal crops. *Crop Sci.*, **14**, 827-830.

HARADA H., 1973. Culture *in vitro* de protoplastes obtenus à partir de tissu foliaire d'*Ipomoea hederifolia* L. et de *Calystegia sepium* L. R. Br. In : *Protoplastes et fusion de cellules somatiques végétales*. **212**[e] *Congrès International CNRS*, 127-129.

HARADA H., OKUZUMI H., 1973. Some application of the freeze method with cryo-unit in scanning electron microscopy. *Jeol News*, **11**, 1-15.

JENSEN R. G., FRANCKI R. I. B., ZAITLIN M., 1971. Metabolism of separated leaf cells. I. Preparation of photosynthetically active cells from Tobacco. *Plant Physiol.*, **48**, 9-13.

JULLIEN M., 1971. Régénération de plantes entières à partir de cellules séparées des feuilles de *Nicotiana Tabacum* diploïdes et haploïdes. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **273**, 1287-1290.

JULLIEN M., 1973. Division et croissance *in vitro* des cellules séparées du parenchyme foliaire d'*Asparagus officinalis* L. *Z. Pflanzenphysiol.*, **69**, 129-141.

JULLIEN M., 1974. La culture *in vitro* des cellules du tissu foliaire d'*Asparagus officinalis* L. : obtention de souches à embryogenèse permanente et régénération de plantes entières. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **279**, 747-750.

JULLIEN M., 1975. *Contribution à l'étude des cultures* in vitro *de cellules séparées du tissu foliaire et de leurs potentialités organogènes chez quelques plantes supérieures, en particulier chez* Asparagus officinalis. Thèse Doctorat de spécialité Paris-VI, 94 pages.

KOHLENBACH H. W., 1966. Die Entwicklungspotenzen explantierter und isolierter Dauerzellen. I Das Streckungs und Teilungswachstum isolierter Mesophyllzellen von *Macleaya cordata*. *Z. Pflanzenphysiol.*, **55**, 142-157.

KOHLENBACH H. W., SCHMIDT B., 1975. Cytodifferenzierung in Form einer direkten Umwandlung isolierter Mesophyllzellen zur Tracheiden. *Z. Pflanzenphysiol.*, **75**, 369-374.

KULANDAIVELU G., GNANAM A., 1974. Physiological studies with isolated leaf cells. *Plant Physiol.*, **54**, 569-574.

LIN M. L., STABA E. J., 1961. Pepermint and spearmint tissue cultures. I. Callus formation and submerged cultured. *Lloydia*, **24**, 139-145.

MACKENZIE A., BUI DANG HA D., DAVEY R., 1973. Some aspects of the isolation, fine structure and growth of protoplasts from *Asparagus officinalis*. In : *Protoplastes et fusion de cellules somatiques végétales*. **212**[e] *Congrès international CNRS*, 291-300.

MAKSYMOWYTCH R., KETTRICH M. A., 1970. DNA synthesis, cell division and cell differentiation during leaf development of *Xanthium pennsylvanicum*. *Amer. J. Bot.*, **57**, 844-849.

MUIR W. H., 1953. *Cultural conditions favouring the isolation and growth of single cells from higher plants*. Ph. D. Thesis, Univ. Wisconsin, USA.

MURASHIGE T., NAKANO R., 1966. Tissue culture as a potential tool in obtaining polyploid plants. *J. Hered.*, **57**, 4, 114-115.

MURASHIGE T., NAKANO R., 1967. Chromosome complement as a determinant of the morphogenic potential of Tobacco cells. *Amer. J. Bot.*, **54**, 963-970.

NISHI T., YAMADA Y., TAKAHASHI E., 1968. Organ redifferentiation and plant restoration in rice callus. *Nature*, **219**, 508-509.

NITSCH C., 1968. Induction *in vitro* de la floraison chez une plante de jours courts *Plumbago indica* L. *Ann. Sci. Nat. Bot.*, Paris, **9**, 1-92.

NITSCH J. P., NITSCH C., 1965. Néoformation de fleurs *in vitro* chez une espèce de jours courts : *Plumbago indica* L. *Ann. Physiol. vég.*, **7**, 251-256.

NITSCH J. P., NITSCH C., HAMON S., 1969. Production de *Nicotiana* diploïdes à partir de cals haploïdes cultivés *in vitro*. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **269**, 1275-1278.

OTSUKI Y., TAKEBE T., 1969. Isolation of intact mesophyll cells and their protoplasts from higher plants. *Plant and Cell Physiol.*, **10**, 917-921.

RACUSEN D. W., ARONOFF S., 1953. A homogeneous cell preparation from Soybean leaves. *Sciences*, **148**, 302-304.

ROSSINI L., 1969. Une nouvelle méthode de culture *in vitro* des cellules parenchymateuses séparées des feuilles de *Calystegia sepium* L. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **268**, 683-685.

ROSSINI L., 1972. Division of free leaf cells of *Calystegia sepium in vitro*. *Phytomorphology*, **22**, 21-29.

ROSSINI L., 1975. *Étude des facteurs exogènes et endogènes agissant sur la division* in vitro *des cellules dissociées du parenchyme foliaire de* Calystegia sepium *L. R. Br.* Thèse Doctorat d'État Paris-VI, 143 pages.

SACRISTAN M. D., MELCHERS G., 1969. The caryological analysis of plant regenerated from tumorous and other callus culture of Tobacco. *Molec. gen. Génét.*, **105**, 317-333.

SMITH S. M., STREET H. E., 1974. The decline of embryogenic potential as callus and suspension cultures of carrot (*Daucus carota* L.) are serially subcultured. *Ann. Bot.*, **38**, 223-242.

STEWARD F. C., SHANTZ E. M., 1956. The chemical induction of growth in plant tissue culture. In : *The Chemistry and mode of action of plant growth substances*, Ed. R. L. Wain and F. Wightman, Butterworths Ltd, London, 165-168.

STREET H. E., 1966. Growth differentiation and organogenesis in plant tissue and organ culture. In : *The Biology of cells and tissues in culture*, Ed. E. N. Wilmer, Academic press. New-York, 631-689.

STREET H. E., 1973. Cell (suspension) cultures-techniques. In : *Plant tissue and cell culture*. Ed. H. E. Street, Blackwell Scientific publications. Oxford, 59-99.

SUNDERLAND N., 1960. Cell division and expansion in the growth of the leaf. *J. exptl. Bot.*, **11**, 68-80.

SUNDERLAND N., 1973. Nuclear cytology. In : *Plant tissue and cell culture*. Ed. H. E. Street, Blackwell Scientific publications, Oxford, 161-190.

TAKEBE I., OTSUKI Y., AOKI S., 1968. Isolation of Tobacco mesophyll cells in intact and active state. *Plant and Cell Physiol.*, **9**, 115-124.

USUI I., TAKEBE I., 1969. Division and growth of single mesophyll cells isolated enzymatically from Tobacco leaves. *Development, Growth and Differentiation*, **11**, 143-147.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (1), 105-115.

# Compétition intervariétale chez le Tournesol

P. LECLERCQ

*Station d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A., Domaine de Crouelle, 63100 Clermont-Ferrand*

## Résumé

Le pouvoir de compétition du Tournesol, défini comme la mesure de la capacité d'un génotype à augmenter son rendement aux dépens du rendement des autres génotypes géographiquement les plus proches sur le terrain, a été étudié dans sa corrélation avec 5 caractères :

— hauteur définitive,
— tardiveté,
— hauteur de jeune plante,
— largeur de feuille,
— teneur en huile.

La tardiveté essentiellement, la largeur de feuille secondairement, paraissent les deux caractères les plus déterminants pour le pouvoir de compétition.

## Buts de l'étude

Nous nous proposons de définir sur le plan biométrique (et non physiologique) le pouvoir de compétition entre variétés différentes à peuplement constant. Ceci doit faciliter l'interprétation des essais en parcelles étroites. De plus on comprendra mieux l'évolution passée des populations cultivées de Tournesol quand on connaîtra quelques unes des lois de la compétition entre phénotypes à l'intérieur d'une population, au peuplement cultural, en supposant que ce sont les mêmes lois qui président à la compétition entre variétés dans un essai en parcelles étroites.

## Définitions

### a) *Définition du pouvoir de compétition*

Les conditions de culture étant fixées (densité, fertilité...), définissons le rendement propre $p$ d'une variété comme le rendement à l'unité de surface qu'on aurait obtenu sur le champ d'essai (lignes de bordures exclues) s'il avait été entièrement semé de cette variété.

On peut définir le pouvoir de compétition C à partir de la formule suivante :

$$P = p\left(1 + Cv - \frac{C1}{2} - \frac{C2}{2}\right)$$

P étant le rendement à l'unité de surface observé sur une ligne, $p$ le rendement propre de la variété cultivée sur cette ligne, Cv le pouvoir de compétition de cette variété, C1 et C2 les pouvoirs de compétition des variétés cultivées sur les 2 lignes immédiatement voisines.

Cette formule exprime trois idées simples :

1) Quand les conditions de compétition sont fixées, le rendement observé P augmente avec le rendement propre $p$.

2) Quand le rendement propre est fixé, le rendement observé :

*a*) augmente avec le pouvoir de compétition Cv de la ligne observée,

*b*) diminue quand le pouvoir de compétition moyen des 2 lignes voisines : $\frac{C1 + C2}{2}$ augmente.

3) Si 3 lignes successives portent la même variété, on a pour la 2[e] ligne (centrale) :

$$P = p\left(1 + Cv - \frac{Cv}{2} - \frac{Cv}{2}\right) = p$$

Dans ce cas, le rendement observé est égal au rendement propre.

b) *Conséquences*

Si on considère 3 variétés différentes sur 3 lignes successives, avec les pouvoirs de compétition C1, Cv, C2, la condition C maximum — C minimum $\leqslant 1$ est nécessaire pour exprimer l'idée que le rendement observé P ne peut pas être négatif, même si

$$Cv = C\ \text{minimum}$$

et si $C1 = C2 = C\ \text{maximum}$

En effet $P \geqslant 0$ implique, puisque $p > 0$

$$1 + C\ \text{minimum} - \frac{C\ \text{maximum}}{2} - \frac{C\ \text{maximum}}{2} \geqslant 0$$

$$C\ \text{minimum} - C\ \text{maximum} \geqslant -1$$

$$C\ \text{maximum} - C\ \text{minimum} \leqslant 1$$

Cette même condition fait que P ne peut pas être supérieur à $2p$, même si $Cv = C$ maximum et si C1 — C2 — C minimum.

En effet, $C\ \text{maximum} - \frac{C\ \text{minimum}}{2} - \frac{C\ \text{minimum}}{2} \leqslant 1$ implique :

$$P \leqslant p(1 + 1)$$

$$P \leqslant 2p$$

La variable $\frac{P}{p}$ varie donc de 0 (si $P = 0$) à 2 (si $P = 2p$). Nous utiliserons

l'effet de compétition $e = \frac{P}{p} - 1 = \frac{P - p}{p}$ qui varie de $-1$ à $+1$, en prenant une valeur négative si la variété est déprimée par la compétition, positive si la variété est avantagée, nulle si la variété conserve son rendement propre.

c) *Relativité du pouvoir de compétition*

On ne peut pas chiffrer directement le pouvoir de compétition d'une variété puisque dans la formule

$$P = p\left(1 + Cv - \frac{C1}{2} - \frac{C2}{2}\right)$$

on dispose d'une équation et de 3 inconnues Cv, C1, C2 (nous supposons connu par ailleurs le rendement propre $p$).

Même si on se place dans les conditions les plus favorables, c'est-à-dire si trois variétés A, B, C sont disposées, chacune à son tour, immédiatement entre les 2 autres, on ne peut pas résoudre le système de 3 équations LA, LB, LC à 3 inconnues CA, CB, CC, ainsi obtenu.

$$LA : \frac{PA}{pA} - 1 = CA - \frac{CB}{2} - \frac{CC}{2}$$

$$LB : \frac{PB}{pB} - 1 = -\frac{CA}{2} + CB - \frac{CC}{2}$$

$$LC : \frac{PC}{pC} - 1 = -\frac{CA}{2} - \frac{CB}{2} + CC$$

En effet, chacune des 3 équations, si on considère les seconds membres, est l'opposé de la somme des 2 autres (par exemple : LC = — LA — LB).

Ainsi, chacune des 3 équations n'apporte sur les inconnues aucune information qui ne soit déjà contenue dans l'ensemble des 2 autres. C'est pourquoi nous avons seulement 2 équations indépendantes avec 3 inconnues, ce qui ne permet pas de donner une valeur chiffrée aux 3 pouvoirs de compétition.

On peut dire, autrement, qu'il n'y a pas un système unique de 3 solutions parce que le déterminant des coefficients des inconnues est nul.

En résumé, on ne peut pas chiffrer le pouvoir de compétition d'une variété si on ne connaît pas déjà le pouvoir de compétition d'une autre variété.

d) *Paramètre corrélant avec le pouvoir de compétition*

Proposons-nous d'éprouver l'hypothèse suivante : le pouvoir de compétition est en corrélation linéaire avec un caractère mesurable. Si nous utilisons par exemple la hauteur définitive H atteinte par la plante, le pouvoir de compétition lié à la hauteur C$h$ serait alors une fonction du 1[er] degré en H : $Ch = a + bH$ $a$ et $b$ étant constants d'une variété à l'autre, C$h$ et H variant d'une variété à l'autre.

L'effet de compétition sur une parcelle $e = \dfrac{P - p}{p}$ serait alors égal à :

$$\left(Chv - \frac{Ch1}{2} - \frac{Ch2}{2}\right)$$

$$= \left(a + b\text{Hv} - \frac{a + b\text{H1}}{2} - \frac{a + b\text{H2}}{2}\right)$$

$$= b\left(\text{Hv} - \frac{\text{H1}}{2} - \frac{\text{H2}}{2}\right)$$

C*h*v, C*h* 1, C*h* 2 étant les pouvoirs de compétition
Hv, H1, H2, les hauteurs de la plante, des 3 variétés situées respectivement sur la ligne considérée et sur les 2 lignes immédiatement voisines de part et d'autre.

Si notre hypothèse de départ est exacte (suivant laquelle le pouvoir de compétition est une fonction linéaire de la hauteur), alors :

$$e = \frac{P - p}{P}$$

doit avoir avec la quantité *eh*, définie comme

$$\text{Hv} - \frac{\text{H1}}{2} - \frac{\text{H2}}{2}$$

un coefficient de corrélation égal à + 1 ou — 1.

Si notre hypothèse est fausse et si, plus précisément, il n'y a aucun lien entre le pouvoir de compétition et la hauteur de la plante, alors il n'y aura aucun lien statistique entre *e* et *eh*.

La probabilité du rapport F correspondant à la régression de *e* en *eh* nous permettra de conclure quant à la validité de notre hypothèse même si *e* et *eh* ne sont pas distribués normalement sur l'ensemble des parcelles (principes de la régression). On peut introduire d'autres caractères X, Y, si on veut étudier leur liaison avec le pouvoir de compétition, et enfin une régression multiple donnant *e* en fonction de *eh*, *ex*, *ey*...

## Application pratique

### a) *Dispositif*

Nous avons cultivé dans un même champ d'un hectare, à peuplement constant 84 variétés de Tournesol disposées au hasard, d'une part dans des essais en parcelles larges en 2 répétitions (4 lignes à 0,70 m entre lignes, 25 cm sur la ligne) pour mesurer le rendement propre, et d'autre part dans d'autres essais en parcelles étroites (1 seule ligne) pour mesurer la compétition. Nous n'avons pas utilisé de lignes de bordure (la dernière ligne d'une parcelle est à 0,70 m de la 1re ligne de la parcelle suivante). On n'a pas pu étudier chacune des variétés en compétition avec les 83 autres : chaque variété a été disposée, par le jeu de la randomisation dans 2 répétitions, à côté d'un maximum de 4 autres dans l'essai en parcelles étroites.

Nous avons tenu compte uniquement des effets de compétition qui s'exercent sur les parcelles individuelles d'une ligne, en considérant comme négligeables,

par rapport aux premiers, ceux qui s'exercent sur la moyenne de 2 parcelles de 4 lignes. En effet, pour chaque parcelle individuelle d'une ligne, ayant comme voisines les variétés 1 et 2, l'effet de compétition est égal à

$$eI = \frac{P - p}{p} = Cv - \frac{C1 + C2}{2}$$

Avec la même variété, pour chaque moyenne des 2 parcelles de 4 lignes, (les parcelles ayant comme voisines les variétés 3 et 4, 5 et 6), l'effet de compétition $\bar{e}\ IV = \dfrac{P - p}{p}$ sera égal à :

| | Origine des éléments de calcul écrits sur la colonne de gauche |
|---|---|
| $1/2 \times$ | (Moyenne de 2 parcelles) |
| $1/4 \times$ | (Moyenne de 4 lignes) |
| $\left(Cv - \dfrac{Cv + C3}{2}\right.$ | (1^re^ ligne de la 1^re^ parcelle) |
| $+ 0$ | (2^e^ ligne de la 1^re^ parcelle) |
| $+ 0$ | (3^e^ ligne de la 1^re^ parcelle) |
| $+ Cv - \dfrac{Cv + C4}{2}$ | (4^e^ ligne de la 1^re^ parcelle) |
| $+ Cv - \dfrac{Cv + C5}{2}$ | (1^re^ ligne de la 2^e^ parcelle) |
| $+ 0$ | (2^e^ ligne de la 2^e^ parcelle) |
| $+ 0$ | (3^e^ ligne de la 2^e^ parcelle) |
| $\left. + Cv - \dfrac{Cv + C6}{2}\right)$ | (4^e^ ligne de la 2^e^ parcelle) |

$$= \frac{1}{8}\left(2\,Cv - \frac{C3 + C4 + C5 + C6}{2}\right)$$

$$= \frac{Cv}{4} - \frac{C3 + C4 + C5 + C6}{16}$$

Si les C sont distribués normalement autour de leur moyenne générale avec une variance $s^2$, les *e*I seront distribués autour de 0 avec une variance :

$$s^2 + \frac{2\,s^2}{4} = 1{,}5\ s^2$$

alors que les $\bar{e}$ IV seront distribués autour de 0 avec une variance :

$$\frac{s^2}{16} + \frac{4\,s^2}{256} = 0{,}078125\ s^2$$

c'est-à-dire que la variance des $\bar{e}$ IV autour de 0 sera 19,2 fois plus petite que la variance des *e*I autour de 0. C'est pourquoi on admettra que tous les $\bar{e}$ IV sont égaux à 0, c'est-à-dire que les effets de compétition par rapport à la moyenne générale sont négligeables sur les moyennes de 2 parcelles de 4 lignes. Le rendement observé sur la moyenne de 2 parcelles de 4 lignes sera donc considéré comme le rendement *propre* $p$ de la variété.

b) *Divers paramètres*

Pour 168 parcelles d'une ligne (2 parcelles par variété) nous disposons par parcelle, de :

1) $e = \frac{P - p}{p} = \frac{P}{p} - 1$

$= \frac{\text{rendement moyen de la même variété sur 2 parcelles de 4 lignes}}{\text{rendement observé sur la parcelle considérée}} - 1$

2) *eh* = Hauteur de la variété cultivée sur la parcelle considérée, moins hauteur moyenne des 2 variétés cultivées sur les 2 parcelles immédiatement voisines, l'une à gauche, l'autre à droite.

$$= Hv - \frac{H1 + H2}{2}$$

A chaque variété, on a attribué la hauteur moyenne observée sur 15 plantes (3 répétitions de 5 plantes) dans les parcelles d'une ligne (H varie de 130 à 222 cm). De même qu'on avait obtenu *eh* à partir de H, on a obtenu ensuite : *et*, à partir de T, la tardiveté à la floraison (T varie de 79 à 97 jours après le semis du 7/4).

*ep*, à partir de P, la hauteur de jeune plante, 55 jours après le semis (P varie de 27 à 48 cm).

*el*, à partir de L, la largeur de la plus grande feuille, à la date ci-dessus (L varie de 8 à 18 cm).

*eo*, à partir de o, la teneur en huile de la graine entière à 9 p. 100 d'eau (o varie de 36,3 % à 50,2 %).

## Résultats

### 1. — *Modèle additif*

$$e = K + kh\, eh + kt\, et + kp\, ep + kl\, el + ko\, eo$$

les paramètres K, *kh*, *kt*, *kp*, *kl*, *ko*, étant des constantes.

a) *Corrélations simples*

| | *eh* | *et* | *ep* | *el* | *eo* | *e* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *eh* (H = Hauteur définitive) | | 0.63 | 0.07 | 0.29 | 0.01 | 0.38 |
| *et* (T = Tardiveté) | | | — 0.20 | 0.21 | 0.11 | 0.40 |
| *ep* (P = hauteur de jeune plante) | | | | — 0.17 | 0.18 | — 0.01 |
| *el* (L = Largeur de feuille) | | | | | 0.10 | 0.32 |
| *eo* (o = Teneur en huile) | | | | | | 0.07 |
| *e* = effet de compétition | | | | | | |

Les coefficients de corrélation significativement différents de 0 sont soulignés :
une fois si $P < 0.05$ ($0.15 < r < 0.20$),
deux fois si $P < 0.01$ ($r > 0.20$).

A ne considérer que les coefficients supérieurs à 0,20, on note que les types les plus compétitifs seraient les plus tardifs, les plus hauts, ayant les feuilles les plus larges. Cependant, dans l'interprétation finale, il faudra tenir compte des corrélations entre ces trois caractères (ce qui sera fait avec la régression multiple).

Notre caractère : P = hauteur de jeune plante est lié avec la tardiveté ce qui signifie que cette hauteur est mesurée à une date où la croissance rapide après initiation florale a déjà commencé (dans ce cas, les plus précoces sont les plus hauts).

b) *Régression multiple*

Un programme d'analyse de régression multiple, avec élimination automatique de facteurs, mis en œuvre à la Faculté des Sciences de Clermont-Ferrand (Laboratoire de calcul), nous a montré que 3 facteurs doivent être successivement éliminés, comme étant non significativement liés au pouvoir de compétition.

1. *La teneur en huile*

En effet, dans le tableau d'analyse de la variance de l'effet de compétition, le rapport F correspondant à l'effet de l'huile seule (les 4 autres facteurs étant supposés constants [1]) est inférieur à 1.

2. *La hauteur de la jeune plante*

Le rapport F correspondant à l'effet de la hauteur de jeune plante seule (les 3 autres facteurs étant supposés constants) ne diffère pas significativement de 1 :

$$F = 1{,}05 \text{ avec } n_1 = 1. \quad n_2 = 163.$$

3. *La hauteur définitive de plante*

Le rapport F correspondant à l'effet de la hauteur de plante seule (les 2 autres facteurs, tardiveté et largeur de feuilles étant supposés constants) ne diffère pas significativement de 1 :

$$F = 3{,}07 \text{ avec } n_1 = 1 \quad n_2 = 164$$

Le seuil à 5 p. 100 étant de 3,84, on peut adopter ici une conclusion réservée, c'est-à-dire qu'un effet favorable de la hauteur totale sur le pouvoir de compétition ne doit pas être entièrement exclu, bien qu'on n'ait pas réussi à le mettre en évidence. Finalement, parmi les 5 caractères étudiés, seules la tardiveté et la largeur de feuille paraissent liées significativement à l'effet de compétition, d'une façon indépendante des autres caractères. La tardiveté est plus importante seule ($F = 25{,}30$) que la largeur de feuille seule ($F = 12{,}45$). Les 2 effets sont significatifs avec , $n_1 = 1$, $n_2 = 165$.

[1] Ici et plus loin, au lieu d'écrire « le facteur $x$ étant supposé constant », on pourrait écrire plus précisément, mais plus longuement « les effets de la régression linéaire de $e$ en $x$ étant annulés dans la variation de $e$ ».

### 2. — *Modèle multiplicatif*

On a supposé d'abord que E, l'effet de compétition sur parcelles individuelles, pouvait s'exprimer comme une combinaison linéaire des 5 caractères *eh, et, el, eo* (modèle additif).

Puis on a voulu éprouver un modèle multiplicatif, E s'exprimant comme un produit de puissance des 5 caractères. Ce 2e modèle est *a priori* tout aussi satisfaisant que l'additif; il présente le seul inconvénient d'être plus long à calculer, puisqu'il demande une transformation de toutes les données de base en logarithmes.

Dans ce 2e modèle, on a :

$$E = K(eh + ch)^{kh} (et + ct)^{kt} (ep + cp)^{kp} (el + cl)^{kl} (eo + co)^{ko}$$

ou encore :

$$\log E = \log K + kh \log (eh + ch) + kt \log (et + ct) + kp \log (ep + cp) + kl \log (el + cl) + ko \log (eo + co).$$

L'addition des constantes $c(ch, ct, cp, cl, co)$ aux différentes variables est nécessaire pour que les expressions entre parenthèses soient positives, ce qui permet de donner un sens aux logarithmes.

Les conclusions sont les mêmes qu'à partir du modèle additif, c'est-à-dire qu'il faut éliminer successivement, comme n'ayant pas de lien statistique autonome avec l'effet de compétition :

1) la teneur en huile :
F de la régression du caractère seul avec l'effet de compétition : 0.53.

2) la hauteur de plantule :

F (comme ci-dessus) : 0,86.

3) la taille définitive :

F (comme ci-dessus) : 3,35.

Restent les liens significatifs autonomes entre tardiveté de floraison, largeur de feuille d'une part et effet de compétition d'autre part.

## Pouvoir de compétition et pouvoir d'expansion

Sachant que la différence maximale entre 2 pouvoirs de compétition est 1, doit-on situer l'ensemble des pouvoirs de compétition entre 0 et 1, par exemple ou entre $-\frac{1}{2}$ et $+\frac{1}{2}$? Dans la façon dont nous avons défini le pouvoir de compétition jusqu'ici, rien ne permet de répondre à cette question sinon un choix arbitraire. Attribuons donc à la ligne vide, sans végétation, le pouvoir de compétition 0 ce qui situera l'ensemble des pouvoirs de compétition entre 0 et 1. Ainsi, une lignée

ayant un pouvoir de compétition maximal, égal à 1, aura un rendement par ligne doublé par rapport à son rendement propre, si on la place entre 2 lignes vides.

$$P = p\left(1 + 1 - \frac{0 + 0}{2}\right) = 2p$$

De même, une lignée dont le pouvoir de compétition est de 0,5 aura un rendement par ligne multiplié par 1,5 si on la place entre 2 lignes vides :

$$P = p\left(1 + 0{,}5 - \frac{0 + 0}{2} = 1{,}5\ p\right).$$

On voit que le pouvoir de compétition que nous avons défini se ramène à un pouvoir d'expansion, si on définit le pouvoir d'expansion d'une variété, à une densité de peuplement donné, comme la proportion dont augmente le rendement par plante quand on double la surface disponible pour chaque plante. On pourrait donc chiffrer le pouvoir de compétition de chaque variété en la cultivant successivement à une densité $d$, puis $\frac{d}{2}$.

Si on considère les productions par plante : $p$, à une densité $d$, P à une densité $\frac{d}{2}$, le pouvoir d'expansion E sera égal à $\frac{P - p}{p}$. Si on considère les rendements à l'hectare $r$ à la densité $d$, R à la densité $\frac{d}{2}$, on aura $E = \frac{2R - r}{r}$.

Dans le présent travail, on suppose que les effets de compétition entre les variétés A et B sont entièrement déterminés par la connaissance des pouvoirs d'expansion de A et de B.

C'est-à-dire qu'on néglige les effets de compétition spécifiques pour s'en tenir à la notion de pouvoir de compétition général, qui est une caractéristique génétique de chaque variété, indépendante des variétés voisines.

On voit que pouvoir de compétition général et pouvoir d'expansion sont synonymes.

## Comparaison avec des études antérieures

Les travaux de DEMARLY (1964), puis de CHALBI (1967) sur la Luzerne, présentent avec l'étude actuelle deux différences importantes.

1) Alors que la survie individuelle des plants de Luzerne est l'exception (moins d'1/3 de l'effectif semé selon DEMARLY), elle est pratiquement totale chez le Tournesol (plus de 95 p. 100 de l'effectif semé). C'est pourquoi nous devons étudier spécialement ce qui est notre seul point d'appui : l'effet de la compétition sur le rendement en graines par plante. C'est ce que nous appelons « effet de compétition » (qu'on pourrait aussi appeler, selon la terminologie de CHALBI : modification plastique relative du rendement).

2) Notre but, pour avoir quelques idées sur l'évolution passée des populations cultivées de Tournesol, ainsi que pour mener à bien des essais en parcelles

étroites incluant un grand nombre de variétés, est de dégager les lois générales de la compétition, s'appliquant à toute l'espèce si possible.

L'étude de l'aptitude spécifique à la compétition, qui doit être reprise pour chaque nouvelle association de 2 génotypes, ne nous concerne donc pas, alors qu'elle est importante pour le sélectionneur de Luzerne, s'il envisage favorablement la culture en association d'un nombre réduit de génotypes, pratiquement analysables dans toutes leurs confrontations 2 à 2.

Nous sommes conscients du fait que, en négligeant l'aptitude spécifique à la compétition, nous ne pouvons bâtir qu'un modèle grossier, qui pourra n'être pas adapté à de nombreuses associations particulières. Cependant, c'est cette voie qui nous a été tracée par le but de notre travail.

## Discussion

Sans nous attarder sur le pourcentage d'huile, on peut supposer qu'une population de Tournesol multipliée en isolement ne verra évoluer sa teneur en huile ni dans un sens, ni dans un autre.

Pour la hauteur de jeune plante, l'aptitude à prendre rapidement de la hauteur est un facteur indifférent à la compétition : en effet, c'est un caractère à 2 composantes dont les effets s'opposent :

1) une composante, qui est la précocité de floraison, ayant pour effet de diminuer le pouvoir de compétition;

2) une composante, qui est la vigueur générale de végétation, ayant pour effet d'augmenter le pouvoir de compétition.

Pour la taille définitive, son effet est nul (ou faible en faveur du pouvoir de compétition). En effet, la taille peut s'exprimer très largement en fonction de la tardiveté et de la largeur de la feuille, qui ont des liens directs très prononcés avec le pouvoir de compétition (corrélation multiple de la taille avec tardiveté et largeur de feuille = 0,651); si on annule, dans la variation de *e*, ce qui est attribuable à la régression linéaire exprimant *e* en fonction de « *et* » et « *el* » alors, il n'y a plus de régression linéaire significative exprimant *e* en fonction de *eh*. Ainsi l'évolution des populations cultivées de Tournesol a dû favoriser les types tardifs à larges feuilles (à l'intérieur des limites où nous avons observé ces caractères). On constate en effet que les populations de tournesol anciennement cultivées en Europe sont toujours plus tardives que l'optimum agronomique. Un tel degré de tardiveté doit être le résultat de siècles de sélection naturelle, depuis l'arrivée du Tournesol dans chaque pays d'Europe. Il est vraisemblable que c'est une meilleure alimentation en eau, par une croissance prolongée des racines, avant la floraison, qui avantage les tardifs. En effet, si on ne considérait que la partie aérienne de la plante, rien ne permettrait d'expliquer qu'une plante tardive, qui prend de la hauteur après les autres, et qui risque ainsi de se voir privée de lumière, puisse prendre l'avantage dans la compétition. La compétition pour l'eau paraît, chez le Tournesol, plus importante que la compétition pour la lumière dans nos conditions. Il reste à prouver que les variétés tardives ont, en moyenne, des racines plus lon-

gues que les précoces et que la croissance en longueur des racines s'arrête en même temps que la croissance en longueur de la tige, c'est-à-dire à la floraison.

On peut imaginer une autre explication selon laquelle la compétition entre les variétés n'est pas alimentaire, mais agressive. Dans la compétition alimentaire, les variétés se partagent inégalement les ressources limitées (par exemple les variétés tardives à développement radiculaire important utiliseraient mieux l'eau disponible en profondeur). Dans la compétition agressive, les racines sécrètent des substances toxiques pour les autres variétés, et avec d'autant plus d'intensité que le développement radiculaire est important, ce qui avantage les tardifs. Quand l'alimentation n'est pas suffisante (ce qui est sans doute le cas dans notre expérience) on ne peut pas choisir entre les 2 hypothèses. Mais on pourrait le faire après avoir distribué une alimentation surabondante : si les effets de la compétition demeurent inchangés, c'est qu'on a affaire à une compétition agressive.

Au contraire, dans l'hypothèse d'une compétition alimentaire, et plus précisément d'une compétition pour l'eau, les types tardifs seraient d'autant plus compétitifs qu'on se trouverait en conditions de sécheresse, ou plus précisément que l'eau nécessaire ne serait disponible qu'en profondeur. En réalisant des essais comparatifs en parcelles étroites, il faudra s'attacher essentiellement pour réduire les effets de compétition, à placer au voisinage l'une de l'autre des variétés de même précocité, et secondairement, des variétés ayant même largeur de feuille.

*Reçu pour publication en avril 1976.*


## Summary

*Intervarietal competition in Sunflower*

The competitive ability of sunflowers, defined as the capacity of a genotype to increase its yield at the expense of the yield of genotypes which surround it in the field, was studied in correlation with 5 characters:

— Final height.
— Lateness.
— Height of the young plant.
— Leaf width.
— Oil content.

Primarily lateness and secondarily leaf width appear to be the two most determining characters for competitive ability.


## Références bibliographiques


CHALBI, N., 1967. La compétition entre génotypes et ses effets sur les caractères quantitatifs de la Luzerne. *Ann. Amélior. Plantes*, **17** (1), 67-82.

DEMARLY Y., GUY P., CHESNEAUX M.-Th., 1964. Analyses préliminaires de la compétition chez les Luzernes.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (1), 117-128.

# Technique de mesure de la digestibilité *in vitro* en grande série en vue de la sélection pour la qualité des plantes fourragères

M. LILA
avec la collaboration technique de Mme Simone ALLERIT

*Station d'Amélioration des Plantes fourragères, I.N.R.A., 86600 Lusignan*

---

## Résumé

La sélection pour la qualité des plantes fourragères demande la réalisation de très nombreuses déterminations de digestibilité *in vitro*. Nous avons mis au point une technique basée sur le principe de la méthode de TILLEY permettant d'effectuer 350 à 400 analyses par série sans augmenter les moyens du laboratoire. Dans cette technique les échantillons placés dans des sachets de nylon ne sont pas soumis isolément à l'action du jus de rumen. Ceci permet des études plus fines en particulier celle de l'action de la présence d'un ou plusieurs organes d'une plante sur la digestibilité des autres organes.

L'analyse statistique de différents essais montre que la précision obtenue est bonne. Les interactions avec les séries voient leur importance diminuer même si la répétabilité des résultats entre différentes séries n'est pas parfaite.

Cette technique de mesure de la digestibilité *in vitro* semble bien adaptée pour la sélection à condition de respecter l'importance que les facteurs aléatoires ou contrôlés tels que climat, fumure, précocité ont sur le niveau de digestibilité des plantes soumises à l'analyse.

---

## Introduction

Un des aspects important de la sélection des plantes fourragères comporte l'amélioration de la valeur alimentaire. Au laboratoire, la meilleure estimation de ce caractère est la digestibilité *in vitro*.

A la Station d'Amélioration des Plantes fourragères de Lusignan, la méthode de TILLEY et TERRY (1963) modifiée par ALEXANDER et MAC GOWAN (1966) a été longtemps appliquée et a permis de mettre en évidence les possibilités d'utilisation des résultats de la digestibilité *in vitro* à des fins de sélection (héritabilité, influence du rendement, influence du rapport feuille/tige...), LILA (1970).

Au cours des années le nombre d'échantillons soumis à ce test a été croissant

pour atteindre environ 10 000. Les limites de la méthode sont alors apparues : impossibilité d'effectuer des séries de plus de 150 échantillons, effet « série » relativement important accompagné généralement d'interactions, perturbant parfois l'interprétation statistique d'essais importants, etc. Nos efforts se sont alors portés sur une technique permettant d'augmenter notablement le nombre d'échantillons soumis à l'analyse par série tout en diminuant le nombre de manipulations délicates et fastidieuses telles que centrifugation et filtration.

Nous avons ainsi mis au point une technique qui nécessite peu de matériel, et sans augmentation du personnel permet de déterminer la digestibilité *in vitro* de 350 à 400 échantillons par série.

Nous avons ensuite étudié le pouvoir discriminant de la méthode et essayé de préciser les limites du caractère ainsi mesuré.

## Technique et matériel utilisé

### 1. — *Principe*

Le principe est le même que dans la méthode de TILLEY et TERRY mais les échantillons ne sont pas soumis isolément à l'action du jus de rumen, ils sont placés individuellement dans des sachets de nylon, eux-mêmes plongés d'abord dans un bain de jus de rumen dilué dans un milieu tamponné en conditions anaérobies et à la température de 38-39 °C, puis ensuite dans une solution de pepsine en milieu acide.

### 2. — *Matériel*

a) *Bain-marie*

Une cuve de 35 litres en altuglass (le verre conviendrait mieux mais il n'existe pas dans le commerce de modèle correspondant) est mise en place dans un bain-marie de volume plus important. A l'intérieur de la cuve un cadre en acier inoxydable sur lequel sont fixés les sachets est suspendu à des bras d'agitation (fig. 1 et 2).

Un système de capillaires régulièrement répartis sur le fond de la cuve est branché sur une bouteille de gaz carbonique ($CO_2$) équipée d'un détendeur à double détente et d'un débimètre.

La température de l'eau du bain-marie est maintenue constante par des résistances électriques reliées à un relais par un thermomètre à contact.

b) *Sachets*

Les sachets de 8 cm sur 10 cm sont confectionnés à partir d'un tissu de nylon découpé au fer à souder. Une soudeuse électrique automatique permet la réalisation des sachets ainsi que leur fermeture.

### 3. — *Personnel*

Mise à part la préparation de l'échantillon (séchage + broyage) une personne dont le travail est étalé sur une année peut réaliser 10 000 déterminations.

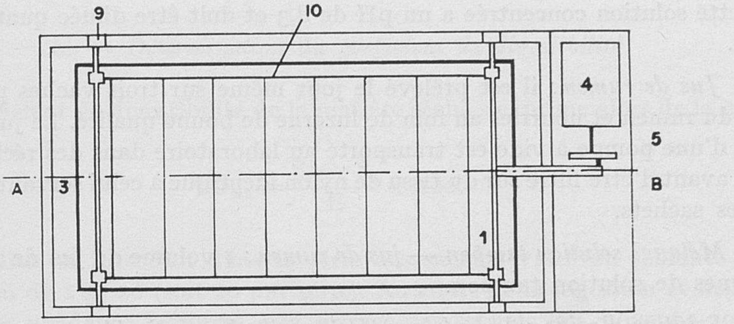



FIG. 1. — *Ensemble bain-marie cuve vue de dessus.*

1. Solution tampon-jus de rumen.
3. Eau du bain-marie.
4. Moto-réducteur.
5. Exentrique.
9. Roulement fixe.
10. Cadre de fixation des sachets.

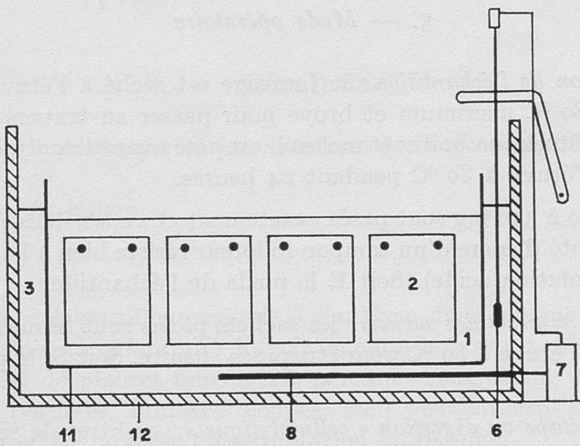



FIG. 2. — *Coupe AB de l'ensemble bain-marie cuve.*

1. Solution tampon-jus de rumen.
2. Sachet nylon.
3. Eau du bain-marie.
6. Vertex.
7. Relais.
8. Résistance.
11. Cuve.
12. Calorifuge du bain-marie.

## 4. — *Réactifs*

a) *Solution tampon :* salive artificielle de MACDOUGALL (1948) :

| | (g) |
|---|---|
| — sodium phosphate disodique ($Na_2HPO_4$) | 46,50 |
| — sodium bicarbonate ($NaHCO_3$) | 49,00 |
| — sodium chlorure (NaCl) | 2,35 |
| — potassium chlorure (KCl) | 2,85 |
| — magnésium chlorure ($MgCl_2$) | 0,20 |
| — calcium chlorure ($CaCl_2$) | 0,20 |
| — eau distillée | q.s.p. 1 000 ml |

Cette solution concentrée a un pH de 8,3 et doit être diluée quatre fois pour emploi.

b) *Jus de rumen:* il est prélevé le jour même sur trois vaches porteuses de fistule du rumen et nourries au foin de luzerne de bonne qualité. Le jus prélevé au moyen d'une pompe à vide est transporté au laboratoire dans des récipients calorifugés avant d'être filtré sur du tissu de nylon identique à celui servant à la confection des sachets.

c) *Mélange solution tampon — jus de rumen:* 1 volume de jus de rumen pour 4 volumes de solution tampon.

d) *Solution d'acide chlorhydrique* (*HCl*) : 1 volume d'acide pur pour 4 volumes d'eau.

e) *Pepsine:* pepsine au 1/10 000 Chas Zimmerman.

### 5. — *Mode opératoire*

a) *Préparation de l'échantillon:* le fourrage est séché à l'étuve ventilée à la température de 80 °C maximum et broyé pour passer au travers d'un tamis de maille 5/10 mm. Stocké en boîtes étanches il est pesé avant l'analyse après un nouveau passage à l'étuve à 80 °C pendant 24 heures.

b) *Pesée:* 490 à 510 mg sont pesés exactement et versés dans un sachet préalablement numéroté (l'encre d'un tampon folioteur résiste bien à l'action du jus de rumen et de la solution acide). Soit E le poids de l'échantillon.

c) *Fermeture et pesée des sachets:* les sachets pleins sont fermés par soudure à chaud et remis à l'étuve à 80 °C pour être pesés ensuite. Soit $S_1$ le poids du sachet plein.

d) *Première étape ou digestion « cellulolytique »:* 24 litres de solution tampon diluée sont versés dans la cuve d'altuglass et maintenus à la température de 38 °C. Les sachets sont alors immergés, le système d'agitation mis en route et pendant 30 minutes environ le milieu est saturé en gaz carbonique par un barbotage intense (4 l/mm). Durant ce temps les 6 litres de jus de rumen sont prélevés sur les trois vaches (2 l/vache), l'ensemble est filtré puis versé dans la cuve. Le couvercle de la cuve puis celui du bain-marie sont mis en place. Au bout de 2 heures, le débit du $CO_2$ est réduit jusqu'à 0,5 l/mm et l'agitation est ramenée à un rythme très lent. L'ensemble est maintenu tel quel pendant 48 heures.

e) *Deuxième étape ou « digestion pepsique »* : les sachets sont alors sortis de la cuve et lavés à grande eau (eau du robinet) puis mis à égoutter. La cuve est vidée et rincée. On verse alors 30 litres de la solution acide puis 44 g de pepsine préalablement dilués dans 1 litre d'eau. Les sachets sont plongés à nouveau dans la cuve et le système d'agitation est remis en marche pour 48 heures.

f) *Pesée finale:* à l'issue de la seconde étape les sachets sont lavés à l'eau, égouttés et mis à sécher à l'étuve à 80 °C. Ils sont pesés secs, soit $S_2$ le poids mesuré après digestion.

### 6. — *Détermination du coefficient de digestibilité*

Le coefficient de digestibilité de la matière sèche s'exprime alors de la manière suivante :

$$CD_{MS} = \frac{S_1 - S_2}{E} \times 100.$$

En réalité on introduit dans la série des sachets vides ou « blancs » dans la proportion de 1 p. 20 (soit 20 par série). Au cours de la digestion et malgré les deux lavages un dépôt se forme à la surface des sachets (en moyenne 10 mg p. 2 g de sachet). Ce poids B du « blanc moyen » est déduit de $S_2$ et la valeur du coefficient de digestibilité s'exprime par :

$$CD_{MS} = \frac{S_1 - (S_2 - B)}{E} \times 100.$$

## Résultats

### 1. — *Avantages et inconvénients de la technique des sachets*

a) *Organisation du travail*

*Avantages*

Le nombre d'échantillons soumis à l'analyse dans chaque série atteint 380 à 420 ce qui permet au laboratoire d'avoir un débit important. Ainsi tous les échantillons d'un essai de plantes fourragères pérennes comportant un nombre de traitements élevé (variétés, fumures, coupes, etc.) peuvent être soumis à la même série d'analyse et en faciliter l'interprétation statistique.

Enfin et plus particulièrement dans le cas ci-dessus (récolte de l'essai étalée sur une période de 6 à 8 mois) pour étaler le travail du laboratoire sur l'année, il est possible de confectionner les sachets pleins au fur et à mesure de la récolte des échantillons et de préparer à l'avance de nombreuses séries.

*Inconvénients*

D'une part, bien que le jus de rumen soit potentiellement à son meilleur niveau d'activité (vache nourrie au foin de luzerne, adjonction de salive artificielle apportant les minéraux et les oligo-éléments nécessaires à une bonne activité cellulolytique des micro-organismes) on peut se demander ce que devient la digestibilité réelle élevée d'un fourrage si celui-ci se trouve représenté en très faible proportion dans une série où l'ensemble des échantillons est d'un niveau très bas. Le milieu étant alors peu favorable, l'activité des micro-organismes peut se trouver réduite.

D'autre part certains végétaux ou certains organes contiennent de manière non négligeable des substances freinant l'activité des micro-organismes (tanins,

alcaloïdes par exemple) celles-ci, solubles dans le milieu, réduisent non seulement la digestibilité de l'échantillon d'où elles sont issues mais aussi celle de l'ensemble des échantillons de la série.

Ces inconvénients obligent à planifier à l'avance les séries en tenant compte des protocoles d'essai et parfois entraînent une réduction sensible du débit optimal permis par la technique.

b) *L'interprétation biologique des résultats*

Dans ce cas les avantages l'emportent nettement sur les inconvénients surtout lorsque l'on compare les résultats obtenus par la technique des sachets à ceux obtenus par la méthode classique de TILLEY.

Deux expériences réalisées, l'une sur Dactyle (*Dactylis glomerata*), l'autre sur Maïs (*Zea mais*) le démontrent aisément :

*Dactyle*

Sur 14 clones de dactyle de précocité sensiblement égale, coupés à l'épiaison, on a séparé les limbes et les tiges + gaines d'une partie de chaque clone (une plante par clone). Les deux organes plus la partie restante de la plante entière ont été analysés ensemble pour la détermination de la teneur en matière sèche digestible. Trois séries de mesure ont été réalisées selon la technique des sachets (traitement en groupe) et selon la technique des tubes (traitement individuel) de TILLEY. A la suite de cette analyse et en fonction du rapport limbes/tiges nous avons reconstitué la digestibilité de la plante (D.P.R.) que nous avons comparée à la digestibilité de la plante entière (D.P.E.). Les comparaisons ont été faites à l'aide de corrélations (tabl. 1 et 2). Le coefficient de corrélation D.T.R./D.P.E. pour la méthode des tubes était de 0,72 et passait à 0,88 pour la méthode des sachets. L'augmentation de la valeur de ce coefficient permet donc de penser que compte tenu des erreurs de prélèvement pour la détermination du rapport limbes/tiges + gaines l'appréciation de la digestibilité des organes est meilleure dans le cas des sachets car elle est faite en présence de l'autre organe dans le mélange solution tampon-jus de rumen. En effet, lorsque l'on compare à l'aide des coefficients de corrélation la digestibilité des limbes, des tiges, de la plante entière et de la plante reconstituée

TABLEAU I

*Coefficients de corrélation entre la méthode des tubes et la méthode des sachets pour les différents organes de dactyle*

| Organe | Nature de la corrélation | Valeur du coefficient |
|---|---|---|
| Limbes. . . . . . . . . . | Dig. en sachets/dig. en tubes | $r = 0{,}35$ non significatif |
| Tiges. . . . . . . . . . | Dig. en sachets/dig. en tubes | $r = 0{,}53$ significatif à 5 % |
| Plante entière. . . . . . | Dig. en sachets/dig. en tubes | $r = 0{,}69$ significatif à 1 % |
| Plante reconstituée. . . . | Dig. en sachets/dig. en tubes | $r = 0{,}49$ significatif à 5 % |

par les 2 méthodes (tabl. 1) seule la corrélation de la plante entière atteint un niveau satisfaisant.

L'intérêt de la technique des sachets se confirme alors car elle permet de mieux suivre les modifications de teneur en matière sèche digestible d'un génotype en fonction de celle de ses constituants.

*Maïs*

Treize hybrides prélevés chacun à deux dates et dont on a séparé les tiges + gaines, les limbes, les rachis et les grains, ont été analysés pour la teneur en matière sèche digestible au cours de 6 séries de mesure selon le schéma suivant :

— une série T selon la technique de TILLEY où chaque échantillon sauf les grains, a été analysé en 3 répétitions;

— cinq séries S selon la technique des sachets où nous avons :

$S_1$ = limbes seules (8 répétitions analytiques par échantillon),
$S_2$ = tiges seules (8 répétitions analytiques par échantillon),
$S_3$ = rachis seuls (8 répétitions analytiques par échantillon),
$S_4$ = limbes, tiges et rachis (4 répétitions analytiques),
$S_5$ = limbes, tiges, rachis et grains (4 répétitions analytiques).

Le tableau 2 récapitule les coefficients de corrélation pour chacune des séries et pour chaque organe hormis les grains.

TABLEAU 2

*Coefficient de corrélation entre la moyenne des 3 séries de la méthode des tubes T et chacune des séries de la méthode des sachets S pour les trois organes de maïs*

| | Limbes | | | Tiges + gaines | | | Rachis | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | $S_1$ | $S_4$ | $S_5$ | $S_2$ | $S_4$ | $S_5$ | $S_3$ | $S_4$ | $S_5$ |
| T | 0,49 | 0,46 | 0,42 | 0,72 | 0,78 | 0,55 | 0,87 | 0,83 | 0,82 |

La digestibilité des limbes, organes pour lesquels la variation est faible (ce qui explique aussi la faible valeur du coefficient de corrélation), n'est pas affectée par la présence des autres organes.

En ce qui concerne la digestibilité des rachis et des tiges + gaines l'examen du tableau 3 permet d'expliquer la variation des coefficients de corrélation entre les séries S et T pour les tiges et leur stabilité pour les rachis. En effet la digestibilité des tiges mesurée dans la série T est étroitement liée à la teneur en glucides de celles-ci, cette liaison est rompue lorsque la mesure est effectuée dans la série S c'est-à-dire lorsque le milieu est enrichi en glucides par la présence des grains. Les rachis à teneur en glucides plus élevée (la variabilité de cette teneur étant elle-même plus faible) ont une digestibilité peu influencée par la présence des grains.

TABLEAU 3

*Coefficients de corrélation entre la digestibilité* in vitro *des tiges et des rachis mesurée dans deux séries* (T et $S_5$) *et la teneur en azote, glucides solubles et cellulose de ces deux organes* ($\sigma$ = écart type, $m$ = moyenne)

| | Organe | Série | Teneur en N | | Teneur en glucides | | Teneur en cellulose | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Digestibilité | Tiges | T | $m = 0,43$ | + 0,15 | $m = 25,4$ | $+ 0,91^{++}$ | $m = 26,7$ | $- 0,88^{++}$ |
| | | $S_5$ | $\sigma = 0,05$ | + 0,18 | $\sigma = 7,60$ | + 0,28 | $\sigma = 2,47$ | $- 0,34^{++}$ |
| | Rachis | T | $m = 0,56$ | $+ 0,84^{++}$ | $m = 31,8$ | $+ 0,51^{++}$ | $m = 24,8$ | $- 0,75^{++}$ |
| | | $S_5$ | $\sigma = 0,14$ | $+ 0,56^{++}$ | $\sigma = 4,24$ | $+ 0,62^{++}$ | $\sigma = 2,03$ | $- 0,67^{++}$ |

Une constatation analogue peut être faite en examinant la digestibilité et la teneur en cellulose des deux organes.

La digestibilité des rachis n'est pas affectée du fait d'une assez forte teneur moyenne en glucides, la présence d'amidon des grains dans la cuve de mesure n'intervient pas sur l'activité cellulolytique des micro-organismes du rumen à partir d'un certain niveau (EL SHAZLY, 1961). Par contre pour les tiges cette activité se trouve perturbée du fait de la présence de l'amidon des grains et, le classement des échantillons est sensiblement modifié.

Ceci nous apparaît comme un avantage car on peut mesurer la digestibilité des tiges de maïs en présence d'amidon, donc de manière relativement semblable à une mesure *in vivo*. On peut penser que la technique de TILLEY est plus artificielle, qu'elle évite l'interaction naturelle qui existe entre les différents organes d'une même plante.

### 2. — *Validité des résultats de la méthode de digestibilité mesurée en sachets Précision. Répétabilité*

a) *Précision*

Trois séries d'essais de la campagne 1973-1974 pris au hasard nous ont permis d'estimer la précision obtenu pour la digestibilité en comparaison de celle obtenue sur un ou deux caractères mesurés au champ et au laboratoire. Il s'agit :

d'un micro-essai luzerne (12 variétés, 8 blocs) exploité en deuxième coupe au stade floraison le 3-7-1973;

d'un micro-essai dactyle (42 génotypes, 3 blocs) exploité en 3e coupe au stade végétatif;

d'un micro-essai dactyle (36 génotypes, 3 blocs) exploité en 3e coupe au stade végétatif.

Une analyse statistique a porté sur 2 ou 3 caractères : la digestibilité *in vitro* de la matière sèche, le rendement en matière sèche et pour la luzerne la teneur en azote de la matière sèche. Les résultats sont récapitulés dans le tableau 4.

TABLEAU 4

*Récapitulation de l'analyse statistique réalisée sur les résultats des micro-essais de luzerne et dactyle*

| | Luzerne | | Dactyle | | | Dactyle | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Digest. *in vitro* en % MS | Rendem. en MS (kg/m²) | Teneur en N en % | Digest. *in vitro* en % MS | Rendem. en MS (kg/m²) | Digest. *in vitro* en % MS | Rendem. en MS (kg/m²) |
| Variance de l'erreur. . . . . | 8,88 | 0,006 | 0,104 | 6,31 | 0,0225 | 13,28 | 0,0304 |
| Moyenne. . . . | 68,33 | 0,57 | 2,38 | 70,44 | 1,74 | 70,64 | 1,79 |
| CV . . . . . . | 4,36 | 13,53 | 13,50 | 3,57 | 8,62 | 5,16 | 9,72 |
| p.p.d.s. . . . . | 2,98 | 0,08 | 0,32 | 4,10 | 0,24 | 5,95 | 0,28 |

A leur vue il apparaît que sur les deux ou trois caractères mesurés, la digestibilité est celui avec lequel on obtient la meilleure précision. Celle-ci est suffisamment grande pour autoriser un classement entre génotypes. Elle est en tout cas toujours supérieure à celle relative aux caractères agronomiques généralement mesurés. Le pouvoir discriminant de la méthode ne peut être mis en doute.

b) *Répétabilité. Interaction séries × traitements*

Un des défauts essentiels de la digestibilité *in vitro*, inhérent à son principe, est la variation des résultats d'une série à l'autre avec parfois, avec la technique de TILLEY, des interactions significatives.

Deux essais nous ont permis de juger pour la technique des sachets si « l'effet série » ou la mauvaise répétabilité des résultats étaient importants.

TABLEAU 5

*Récapitulation comparative de l'analyse statistique réalisée pour chacune des deux techniques sur l'essai dactyle*

| Technique des sachets | | Technique des tubes | |
|---|---|---|---|
| Effet clone | Significatif à 1 % | Effet clone | Significatif à 1 % |
| Effet bloc | Non significatif | Effet bloc | Non significatif |
| Effet organe | Significatif à 1 % | Effet organe | Significatif à 1 % |
| Effet série | Significatif à 1 % | Effet série | Significatif à 1 % |
| Interaction « clone » × série | Non significatif | Interaction « clone » × série | Non significatif |
| Interaction bloc × série | Non significatif | Interaction bloc × série | Non significatif |
| Interaction organe × série | Non significatif | Interaction organe × série | Significatif à 1 % |

— Pour le premier il s'agit de l'essai dactyle présenté au paragraphe 1 *b*. L'analyse statistique est récapitulée dans le tableau 5.

— Pour le deuxième, il s'agit d'un essai de maïs comportant 3 variétés et 2 répétitions, récoltées à deux dates et sur lesquelles les tiges + gaines ont été séparées des limbes. Trois séries de mesure pour chacun des organes ont été réalisées.

TABLEAU 6

*Récapitulation de l'analyse statistique réalisée sur l'essai maïs*

(SS = significatif à 1 %, S = significatif à 5 %, NS = non significatif)

| | Variété | Bloc | Série | V × B | V × S | B × S | Variance erreur | X | CV | p.p.d.s |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Limbes . . . | SS | NS | NS | NS | NS | NS | 12,92 | 65,32 | 5,50 | 2,93 |
| Tiges + gaines | S | NS | NS | NS | NS | NS | 16,37 | 57,97 | 6,97 | 6,60 |

L'analyse statistique est récapitulée dans le tableau 6.

Bien que de manière moins sensible que dans la méthode de TILLEY on constate que l'activité cellulolytique du jus de rumen est plus ou moins forte selon les séries, mais son action se fait toujours dans le même sens. Néanmoins la répétabilité des résultats est loin d'être parfaite et l'amélioration ne sera obtenue qu'en multipliant les répétitions analytiques à l'intérieur des séries et en multipliant le nombre de celles-ci. DENT (1967) a démontré que le nombre minimum recommandé pour être assuré d'une excellente précision était de 8. Alors apparaissait le choix suivant :

— ou bien un grand nombre d'échantillons sont analysés et connaissant les limites du caractère discriminant de la digestibilité, choisir les meilleurs parmi eux avec une marge suffisante de sécurité;

— ou bien obtenir une plus grande précision sur la valeur d'une donnée en multipliant le nombre d'analyses par échantillons. Compte tenu des nombreux facteurs pouvant provoquer une variation, ceci ne prend de sens que si on contrôle de très près l'âge des plantes, les fumures, etc.

Le choix se fera donc en fonction du but poursuivi, du thème de l'essai. Pour la sélection si le choix des génotypes s'effectue en fin de programme (le choix pour d'autres caractères que la digestibilité ayant été réalisé) il faut une erreur sur la mesure aussi faible que possible, donc avoir un nombre de répétitions élevé. Par contre pour un tri grossier (début de sélection) ce nombre peut être réduit.

Néanmoins il faudra toujours s'attacher à vérifier la représentativité de l'échantillon et plutôt que de multiplier par exemple les répétitions analytiques, s'assurer s'il n'est pas possible d'avoir plusieurs échantillons par bloc (dans le cas d'un essai de technique culturale) ou plusieurs plantes d'une même famille (dans le cas d'une étude en sélection).

Malgré toutes les améliorations apportées à la technique de digestibilité,

celle-ci restera toujours sous la dépendance de certains facteurs aléatoires, la technique des sachets permet de les réduire en partie, mais toutes les mesures réalisées devront être interprétées en tenant compte de tous les autres caractères notés (précocité, morphologie, technique de culture, etc.).

Afin de mieux faire ressortir l'intérêt de la technique que nous avons mise au point, les études en parallèle avec la technique de TILLEY auraient pu être plus nombreuses, nous avons pensé que néanmoins celles que nous avons réalisées étaient suffisamment exhaustives. Nous avons maintenant un moyen d'étude dont la valeur des résultats est au moins égale à celui que nous utilisions antérieurement et dont le débit est nettement supérieur. Ceci entraîne peu ou pas de découpes lors de l'analyse d'un essai donc supprime pratiquement l' « exposition » aux interactions avec les séries, ce qui au niveau de la sélection est un très gros avantage.

Nous avons essayé de confirmer la signification des résultats par des études en parallèle avec la digestibilité *in vivo* pour plusieurs génotypes d'une même espèce.

Les protocoles d'étude de mesure *in vivo* n'ont pas été adaptés spécialement pour réaliser ce type de travail et de ce fait les comparaisons ne sont pas toujours statistiquement satisfaisantes.

TABLEAU 7

*Comparaison de la digestibilité mesurée* in vivo *et* in vitro *pour différentes espèces*

| Espèce | Type d'étude | Nombre de couples | Coefficient de corrélation *in vivo / in vitro* |
|---|---|---|---|
| Sudan grass | 3 hybrides ou variétés, évolution sur 5 semaines au 1er cycle | 15 | 0,74 |
| Ray grass d'Italie « Tiara » | 1 variété, 3 fumures azotées, évolution sur 6 semaines au 1er cycle | 18 | 0,89 |
| Ray grass d'Italie Fétuque élevée | 1 Ray grass d'Italie, 2 Fétuques élevées, 1 hybride Fét. × Ray grass, évolution sur 6 semaines au 1er cycle | 24 | 0,89 |
| Maïs, 1972 | 8 variétés ou hybrides expérimentaux, évolution sur 1 ou 2 semaines | 12 | 0,80 |
| Maïs, 1975 | 10 variétés ou hybrides expérimentaux, évolution sur 2 ou 3 semaines | 25 | 0,64 |
| Luzerne | 1 variété et 1 hybride expérimental, 2 rythmes d'exploitation, évolution sur 4 semaines sur 2 cycles | 32 | 0,84 |

Les coefficients de corrélations calculés pour les différentes espèces sont rassemblés dans le tableau 7.

En général, sauf dans le cas du maïs récolté en 1975, les coefficients de corrélation sont relativement élevés et permettent donc d'affirmer que la mesure de digestibilité *in vitro* réalisée par la technique des sachets est un moyen efficace d'apprécier la qualité des fourrages.

*Reçu pour publication en décembre 1974.*

## Summary

### *Technique for measuring* in vitro *digestibility in large series for breeding for quality in forage plants*

Selection for quality in forage plants requires the determination in large numbers of *in vitro* digestibility. A technique based on the method of TILLEY was developed enabling the analysis of 350 to 400 samples in a serie without increasing laboratory facilities. Samples placed in nylon sachets are not exposed to the rumen liquour individually. More detailed study is thus made possible, in particular the influence of the presence of certain organs of a plant on the digestibility of other organs.

Statistical analysis of different trials shows precision to be high. Interaction with the series is reduced, even if repeatability of results between series is not perfect.

The correlations *in vivo-in vitro* for different species (Lucerne, Italian Ryegrass, Maize, Sorghum) are quite close.

This technique of *in vitro* digestibility measurement seems well adapted to a breeding programme provided the influence of chance or controlled factors such as climate, fertilisation, and earliness on digestibility are borne in mind.

## Références bibliographiques

ALEXANDER R. H., MCGOWAN Mary, 1966. The routine determination of *in vitro* digestibility of organic matter in forages. An investigation of the problems associated with continuous large scale operation. *J. Brit. Grassl. Soc.*, **21** (2), 140-147.

DENT J. W., ALDRICH D.T.A., SILVEY V., 1967. Systematic testing of quality in grass varieties I. An assessment of the degree of prevision obtainable in comparing *in vitro* digestibility figures. *J. Brit. Grassl. Soc.*, **22** (4), 270-276.

EL-SHAZLY K., DEHORITY B. A., JOHNSON, R. R., 1961. Effect of starch on the digestion of cellulose *in vitro* and *in vivo* by rumen micro-organisms. *J. anim. Sci.*, **20**, 268-273.

KANE E. A., JACOBSON W. C., DAMEWOOD P. M., 1959. Effect of corn starch on digestibility of alfalfa hay. *J. Dairy Sci.*, **42**, 849-853.

LILA M., 1970. Station d'Amélioration des Plantes Fourragères, I.N.R.A. Lusignan. Rapport d'activité 1962-1968. *Fourrages*, **41**, 124-127.

MCDOUGALL E. I., 1948. Studies on ruminant saliva. I. Composition and out put of sheep's saliva. *Biochem. J.*, **43**, 99-109.

MCLEOD M. N., MINSON D. J., 1969. The use of the *in vitro* technique in the determination of the digestibility of grass legume mixtures. *J. Brit. Grassl. Soc.*, **24** (4), 296-298.

TILLEY J. M. A., TERRY R. A., 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J. Brit. Grassl. Soc.*, **18**, 104-111.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (1), 129-131.

# Étude comparative d'effets génétiques chez les plantes diploïdes et tétraploïdes isogéniques de *Festuca pratensis* Huds. [1]

H. S. EASTON [2]

*Station d'Amélioration des Plantes Fourragères, I.N.R.A., 86600 Lusignan*

Les nombreux programmes de tétraploïdisation entrepris depuis 40 ans chez les plantes fourragères n'ont pas tous connu les succès escomptés. L'étude des effets du niveau de ploïdie est souvent biaisée par l'échantillonnage non aléatoire des populations diploïdes de départ. L'obtention du matériel isogénique diploïde et tétraploïde, nécessaire à une étude précise est difficile. Ainsi les travaux déjà publiés sont-ils peu nombreux et basés sur des effectifs génétiques limités. Un matériel plus important a pu être créé chez la graminée fourragère, *Festuca pratensis* Huds.

L'étude du matériel isogénique a permis de dégager des éléments d'information concernant les effets du niveau de ploïdie sur la forme et la croissance de la plante, sur la structure de la variance génétique, et la continuité de l'action génique à travers le changement de ploïdie.

Les dénombrements de chromosomes lors des mitoses ont montré que l'aneuploïdie est moins fréquente que chez les tétraploïdes artificiels d'espèces parentes (notamment les *Lolium*) et qu'elle diminue avec le nombre de générations sexuées depuis la tétraploïdisation.

Une augmentation de la taille des feuilles chez les tétraploïdes et un ralentissement de leur rythme de formation, ainsi que de celui des talles, effets couramment constatés par d'autres auteurs chez diverses espèces, ont été retrouvés chez ce matériel isogénique. Le poids de matière verte à une première récolte de plantules a été plus élevé chez les tétraploïdes. Au champ, les tétraploïdes ont été par rapport aux diploïdes plus tardifs à l'épiaison et à la floraison et ont produit moins de matière sèche en première et surtout en deuxième année d'exploitation.

L'étude de l'élongation des feuilles chez les plantules a révélé que l'accrois-

(1) Résumé d'une thèse de doctorat d'état ès sciences naturelles, préparée sous la direction du Pr DEMARLY et présentée à l'Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay.

(2) Adresse actuelle : Grasslands Division, D.S.I.R., Palmerston North, Nlle Zélande. L'auteur a bénéficié d'une bourse du National Research Advisory Council de Nouvelle Zélande.

sement de la longueur chez les tétraploïdes est la résultante aussi bien d'une accélération de l'élongation que d'une augmentation de sa durée. L'élongation des feuilles successives est un processus bien coordonné dont les caractéristiques se retrouvent aux deux niveaux de ploïdie. Cette coordination impose un allongement du délai entre l'apparition de deux feuilles successives, le phyllochrone, chaque fois qu'augmente la durée d'élongation des feuilles individuelles.

L'analyse de croissance de la plantule a montré une vitesse relative de croissance plus faible chez les tétraploïdes, mais celle des diploïdes s'est atténuée plus vite avec le temps, l'expérience ayant eu lieu en semis dense, à l'extérieur, en septembre.

Ces analyses, et l'évolution avec le temps du nombre des talles, étroitement liée à celle des feuilles, permettent de suggérer que malgré l'augmentation de la taille des organes et la modification au niveau des cellules du rapport cytoplasme / paroi cellulaire, les changements du rythme de croissance des tétraploïdes par rapport aux diploïdes peuvent être compris en termes de la seule échelle de temps.

Le développement d'un modèle mathématique apte à comparer les tétraploïdes aux diploïdes isogéniques a permis de montrer que, si avec certaines hypothèses simplificatrices la variance génétique est réduite par le passage au niveau tétraploïde, d'autres systèmes de dominance vraisemblables peuvent causer chez les tétraploïdes une variance égale ou même supérieure à la variance des diploïdes.

Même si la dominance au sens biologique et les interactions entre allèles d'ordre élevé sont très importantes, au niveau du modèle statistique de la génétique quantitative elles se retrouvent en grande partie dans la composante additive.

Une série d'expériences génétiques a permis les constatations suivantes :

Comme les populations de *Lolium* étudiées ailleurs, notamment à Aberystwyth, *Festuca pratensis*, plante allogame, présente une variabilité génétique dont le contrôle est largement additif.

L'effet de la consanguinité chez les tétraploïdes n'a pas l'importance souvent signalée pour les espèces naturellement autopolyploïdes et la chute de vigueur calculée pour une même génération de reproduction en consanguinité est moins grande que chez les diploïdes. Pour l'intervalle de consanguinité considéré ( $F = 0$ à $0,5$), le comportement peut être exprimé de façon satisfaisante en fonction du coefficient F, c'est-à-dire de l'interaction entre deux allèles, tout autre indice de consanguinité étant en corrélation étroite avec lui.

Le passage au niveau tétraploïde ne semble pas avoir beaucoup changé la variance de la population. La partie non contrôlée est légèrement augmentée, l'aptitude générale à la combinaison reste l'effet génétique le plus important et est du même ordre de grandeur que chez les diploïdes. L'importance des effets réciproques, qui semblent être d'origine cytoplasmique, n'est pas changée.

L'étude des covariances entre apparentés dans plusieurs essais n'a pas permis une distinction entre modèles génétiques mais a confirmé que l'additivité est la composante de la variance la plus importante aux deux niveaux de ploïdie. La variance additive est moins grande chez les tétraploïdes que chez les diploïdes.

L'étude des covariances entre caractères laisse apercevoir des facteurs de vigueur d'une importance plus grande chez les tétraploïdes où ils tendent à masquer partiellement des contrôles indépendants de caractères différents. De tels facteurs

de vigueur seraient importants dans la population tétraploïde, consanguine et d'origine récente, dont l'appareil génétique n'est pas encore adapté à l'état polyploïde.

Une partie importante de la variation entre familles tétraploïdes peut être exprimée comme une régression sur les familles analogues diploïdes. Mais il reste une variation indépendante significative. Les interactions entre gènes semblent être plus perturbées par le changement de ploïdie que les effets simples.

La réponse symétrique à la sélection massale pour le phyllochrone dans une génération plus éloignée de la tétraploïdisation a été aussi importante chez les tétraploïdes que chez les diploïdes.

Une expérience au champ avec un matériel plus limité a confirmé les conclusions tirées des études sur plantules, ce qui souligne l'intérêt de telles études.

L'intérêt de ces résultats pour un sélectionneur qui entreprend un programme de tétraploïdisation est discuté.

L'ensemble des résultats semble montrer que l'effet immédiat du passage au niveau tétraploïde sur le comportement génétique, observé dans les premières générations, est ensuite modulé par une évolution de la population vers un état d'homéostasie adapté à l'état polyploïde.

*Reçu pour publication en novembre 1976.*

## Addendum

**L'auteur envisage la publication des principaux résultats de son travail dans de prochains numéros des *Annales de l'Amélioration des Plantes*.**

REMERCIEMENTS

Les articles parus dans le volume de 1976 des *Annales de l'Amélioration des Plantes* ont été examinés, au préalable, chacun par deux lecteurs.

Nous remercions ici ceux qui ont ainsi contribué de manière efficace à la publication de notre revue.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Pierre | ANGLADE | Henri | LATERROT |
| André | BERVILLÉ | Patrice | LECLERCQ |
| Bertrand | BIDABÉ | André | LESPINASSE |
| Jean | BULIT | Daniel | MAIZONNIER |
| Alain | BOUQUET | René | MARIE |
| Christian | BRIAN | Jacques | MEYNET |
| Alain | CARBONNEAU | Charles | MESSIAEN |
| Yvonne | CAUDERON | René | MONET |
| Philippe | CHARTIER | Jacques | MOSSÉ |
| Claude | CLAVIER | Michel | PAYNOT |
| Roger | COUSIN | Georges | PELLETIER |
| Yves | DEMARLY | Pierre | PERENNEC |
| Maurice | DERIEUX | Roger | PETIT |
| Claire | DORÉ | Jacqueline | PHILOUZE |
| Paul | DOMMERGUES | Jean | PICARD |
| Gérard | DOUSSINAULT | Edmond | POCHARD |
| Robert | DUMAS DE VAULX | Charles | POISSON |
| Jean | DUNEZ | Maurice | POLLACSECK |
| Sadi | ESSAD | Jacques | PONCHET |
| Léon | FELIX | Roger | POUGET |
| Henri | FEYT | Frantz | RAPILLY |
| Guy | FOUILLOUX | Sylvain | RAUTOU |
| André | GALLAIS | Michel | ROUSSET |
| André | GUILBOT | Georges | SALESSES |
| Pierre | GUY | Bertrand | SCHWEISGUTH |
| Jean | HUGARD | Monique | SIBI |
| Eugène | JOLIVET | Michel | SIMON |
| René | LAISSUS | Richard | TOMASSONE |
| | | Maxime | TROTTET |
| | | Félicity | VEAR |
| | | André | VINCENT |
| | | Roger | WAGNER |

# RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 29,7, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles *séparées* seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

*Au début de chaque mémoire,* on indiquera : — *le titre du mémoire;* il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes); — *le nom des auteurs,* précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de...; *le nom de l'établissement,* dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

*Les mémoires* seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :
a) *résumé* (250 mots max.) suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine; c) *techeique expérimentales et matériels utilisés,* en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences; d) *résultats,* à présenter de la manière la plus brève possible; e) *discussion* et *conclusion;* f) *titre et résumé* en anglais ou destiné à être traduit en anglais comportant une analyse *complète* de l'article; g) *remerciements* pour les collaborations, les fonds, les dons...; h) *références bibliographiques.*

*Les travaux originaux en anglais* doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français *très complet.* Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

*Pour les autres documents* (notes, mises au point, revues, rapports, etc.), l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

*Les références bibliographiques* doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (DUPONT et DUVAL, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier sera mentionné, suivi de *et al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

*Pour les articles:* le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivi (s) des initiales du (des) prénom (s); la date de parution de l'article; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues mentionnées) : le titre du périodique en abrégé, selon la *World List of Scientific Periodicals,* ou le *Bulletin Signalétique du C.N.R.S.;* le volume, la première et la dernière page de l'article.

*Pour les ouvrages:* le nom de l'auteur avec les initiales du prénom; la date de l'édition; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine); le volume; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs; le nom de l'éditeur; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d' «Abstracts», le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

*Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part.* Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

*Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils* seront envoyés soit *à l'état définitif* soit *à l'état de projets,* leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I.N.R.A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : *soit* × 0,5, *soit* × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des *Annales* est : 12,5 × 19 cm; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

*Photographies:* Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos : 9 × 12; 4 photos : 9 × 5,5; 6 photos : 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Il est demandé d'indiquer sur le manuscrit, dans la marge, en regard du texte, l'emplacement souhaité des tableaux et figures.

*Envoi du manuscrit:* M. RIVES; Centre de Recherches de Bordeaux, 33140 Pont de la Maye, France. On demande deux exemplaires.

*Correction des épreuves:* les épreuves que les auteurs recevront à corriger sont à retourner, après correction, à cette même adresse.

*Le Directeur de la publication:* M.-L. Cagnac

F.D. Imprimerie Alençonnaise, rue Edouard-Belin, 61002 Alençon

*Dépôt légal: 2e trimestre 1977. N° d'impression: 84488*

CPPAP n° 26633

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE
I. N. R. A.
Centre de Recherches de RENNES
STATION D'AMÉLIORATION DES PLANTES
B.P. 29 - 35650 LE RHEU
Tél. : (99) 00.71.92

# annales de l'amélioration des plantes

Trimestriel

1977

Vol. 27. N° 2

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs
et de l'institut national de la Recherche agronomique
à l'exception des résumés

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (2), 135-150

# Induction d'appariements homéologues entre les chromosomes du Blé tendre et un télosome d'*Agropyron intermedium* par croisement avec des *Aegilops*

Maria-Cristina CHUECA et Yvonne CAUDERON

*Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, C.R.I.D.A. 6*
*Departamento de Cereales y Leguminosas, Finca « El Encin »,*
*Apartado de Correos, 127, Alcala de Henares Madrid, Espagne.*

*Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes,*
*Centre national de Recherches agronomiques, INRA,*
*78000 Versailles.*

## Résumé

Cette étude rend compte de l'analyse cytogénétique d'hybrides $F_1$ réalisés entre TAF₁ds, une lignée de substitution ditélosomique (Blé tendre × *Agropyron intermedium*) résistante à la Rouille brune et deux espèces d'*Aegilops*, *speltoides* et *mutica* susceptibles de supprimer l'effet de l'allèle *Ph* (inhibiteur d'appariement homéologue porté par le chromosome 5B). Elle a permis d'estimer le pourcentage de recombinaison induite entre le télosome d'*Agropyron* porteur de la résistance à la Rouille brune et les chromosomes du Blé : 5,66 p. 100 avec l'*Ae. speltoides*, 0,44 p. 100 avec l'*Ae. mutica*. Elle démontre donc bien qu'il est possible de transférer des gènes d'*Agropyron* sur les chromosomes du Blé par le biais de l'hybridation avec des *Aegilops*.

La souche d'*Ae. speltoides* utilisée est plus efficace que celle d'*Ae. mutica* : elle est homozygote pour l'aptitude à induire un haut niveau d'appariement; celle d'*Ae. mutica* est hétérozygote, son effet pouvant être nul et dans tous les cas inférieur à celui d'*Ae. speltoides*.

## Introduction et historique

En dépit des progrès accomplis depuis quelques décades, l'amélioration des plantes cultivées par l'hybridation interspécifique reste un problème difficile, surtout lorsqu'il s'agit d'hybrides entre espèces génétiquement distantes. En effet, même si l'on a franchi les obstacles liés aux difficultés de croisement et à la stérilité des $F_1$, l'absence de recombinaison entre les chromosomes des parents conduit le plus souvent à l'isolement de lignées d'addition ou de substitution dont l'utilisation pratique n'est pas toujours facile (CAUDERON, 1971, 1973).

Cependant, dans le cas du Blé tendre, *Triticum aestivum* L. *ssp. vulgare* M.K.,

$2n = 42$, d'importantes découvertes concernant le contrôle génétique de la méiose ont permis de préciser la nature des obstacles à la recombinaison et de mettre au point des méthodes permettant d'induire et d'exploiter de telles recombinaisons. Elles sont le résultat des travaux de nombreux chercheurs parmi lesquels il faut citer SEARS, OKAMOTO, FELDMAN, MELLO-SAMPAYO, DRISCOLL et l'équipe de Cambridge animée par RILEY.

Le Blé tendre est un allohexaploïde segmentaire qui forme régulièrement vingt et un bivalents à la méiose. Il a une hérédité disomique, mais il est constitué de trois génomes homéologues de sorte qu'on peut classer les vingt et un chromosomes dans un tableau à double entrée : trois lots de chacun sept chromosomes représentant les génomes des trois espèces originelles; sept jeux de chacun trois chromosomes (un par génome), représentant les groupes d'homéologie (SEARS, 1954, 1966; OKAMOTO, 1962; CHAPMAN et RILEY, 1966). La diploïdisation, qui limite l'appariement aux seuls homologues, est assurée par un système génétique complexe où interviennent de nombreux gènes, les uns inhibiteurs, les autres modificateurs de cet effet (RILEY, 1966, 1972, 1974; RILEY et LAW, 1965; SEARS, 1954; FELDMAN, 1966; DRISCOLL, 1972; MELLO-SAMPAYO et CANAS, 1973).

Dans cet ensemble, l'allèle *Ph*, situé dans la partie distale du bras de chromosome 5BL (WALL *et al.*, 1971), est le plus actif, le plus facile à mettre en évidence le moins difficile à exploiter. Chez le Blé tendre, il empêche l'appariement entre chromosomes homéologues (RILEY et KEMPANNA, 1963), mais son effet s'étend aux chromosomes issus d'espèces voisines quand on les croise avec le Blé (RILEY et CHAPMAN, 1963; RILEY et KIMBER, 1966). La déficience du chromosome 5B (ou de son bras long) supprime l'effet de l'allèle *Ph* (RILEY et CHAPMAN, 1964) mais on peut aussi le neutraliser en croisant le Blé avec certains *Aegilops* (*speltoides, mutica, longissima*). Chez les hybrides ainsi obtenus, même en présence du chromosome 5B, on observe un appariement homéologue (RILEY et CHAPMAN, 1966; RILEY, 1966; MELLO-SAMPAYO, 1971). Il en est de même si l'on utilise les *Aegilops* inducteurs d'appariement homéologue en croisement avec des lignées d'addition : l'utilisation de lignées ditélosomiques pour le chromosome additionnel a permis de démontrer en effet que les associations chromosomiques observées à la méiose impliquaient aussi le télosome (JOHNSON et KIMBER, 1967; KIMBER, 1968; ATHWAL et KIMBER, 1972; DVORAK, 1972; CAUDERON et RYAN, 1974).

Le mode d'action du système inducteur présent chez ces *Aegilops* reste encore assez obscur. On a cependant la certitude qu'il est différent de celui de l'allèle *Ph*, et qu'il est, en tout cas, beaucoup plus complexe. On ignore également s'il est identique chez les trois espèces, mais on a trouvé récemment chez celles-ci une variabilité génétique intraspécifique pour l'aptitude à induire des recombinaisons homéologues; cette variabilité semble relever d'un même déterminisme génétique (DOVER et RILEY, 1972 *a* et *b*; KIMBER et SALLEE, 1973).

Outre l'intérêt qu'elle présente dans le cadre de l'étude des mécanismes de diploïdisation des polyploïdes, cette particularité des *Aegilops* ouvre des voies nouvelles pour les programmes de sélection par introgression. Elle offre une possibilité d'obtenir des échanges entre deux segments de chromosomes génétiquement très proches et d'aboutir ainsi à des formes structuralement voisines du Blé tendre. C'est ainsi que RILEY, CHAPMAN et JOHNSON, 1968, ont obtenu le géniteur « Compair »

dont la résistance à la Rouille jaune issue d'*Ae. comosa* résulte d'une recombinaison entre les chromosomes 2D (*Triticum aestivum*) et 2M (*Ae. comosa*).

La présente étude fait suite à la mise en œuvre d'un programme de sélection entrepris dans le but d'introduire chez le Blé tendre des gènes de résistance aux Rouilles, issus d'*Agropyron intermedium* (HOST) P.B., $2n = 42$, (CAUDERON, 1966; CAUDERON, SAIGNE et DAUGE, 1973). Elle rend compte de l'analyse cytogénétique d'hybrides réalisés entre $TAF_1$ds, une lignée de substitution ditélosomique résistante à la Rouille brune, et quelques souches d'*Ae. speltoides* ou *mutica* susceptibles d'induire des recombinaisons homéologues. Elle avait deux buts essentiels :

— estimer la fréquence de recombinaison du télosome d'*Agropyron* avec les chromosomes du Blé quand on supprime l'activité de l'allèle *Ph*;
— préciser l'efficacité de la méthode dans le cas de ce chromosome pour lequel THE et BAKER (1970) avaient pu établir l'homéologie avec le chromosome 3A du Blé.

## Matériel et méthodes

### I. — *Matériel*

Dans le cadre de cette étude, nous avons utilisé $TAF_1$ds comme parent femelle : il s'agit d'une lignée de substitution ditélosomique ($2n = 42$, avec 20″ du Blé Vilmorin 27 + $t''$ 3 Agi L d'*A. intermedium*), dans laquelle le télosome d'*Agropyron* qui porte le (s) gène (s) de résistance à la Rouille brune (hypersensibilité) a été substitué au chromosome 5BS/7BS de VILMORIN 27 (V. 27).

*Rappelons que « V. 27 » présente, par rapport à la structure primitive du Blé tendre (type « Chinese spring »), une translocation réciproque impliquant les chromosomes 5B et 7B* (THE *et* BAKER, 1970; LAW, 1971), *avec une paire de structure 5BL/7BL et une paire de structure 5BS/7BS* (CAUDERON, 1973*b*).

$TAF_1$ds présente les mêmes caractéristiques que la lignée $TAF_1$ décrite antérieurement (CAUDERON, 1966 *et al.* 1973) et dont elle est issue par croisement avec un monosomique de « V. 27 ». Elle est moins vigoureuse et aussi plus sensible à la Rouille jaune du fait de la déficience du chromosome de Blé (CAUDERON, 1973*b*), mais elle a présenté une meilleure aptitude au croisement avec les *Aegilops* utilisés comme parents mâles.

Pour ces derniers, les souches suivantes ont servi de pollinisateurs :

a) *Aegilops speltoides* TAUSCH. $2n = 14$ (génome S), souche n° 908 reçue du Dr M. FELDMAN et récoltée en Israël, près d'Ashquelon.

C'est une espèce allogame, que nous avons pu maintenir par autofécondation et qui a déjà été utilisée avec succès dans un autre programme (CAUDERON et RYAN, 1974; RYAN, 1975).

b) *Aegilops mutica* BOISS. $2n = 14$ (génome $M^t$), souche n° 1 025 reçue du Dr JAASKA et récoltée en Arménie près de Sorbulag.

C'est une espèce allogame peu fertile en autofécondation. Elle a été maintenue par fécondation libre, en isolement.

## 2. — *Méthodes*

### a) *Analyses chromosomiques*

Les chromosomes ont été dénombrés dans les méristèmes primaires de racines. Celles-ci, prélevées à partir de grains mis à germer en petits pots individuels, ont été prétraitées dans une solution aqueuse saturée d'α monobromonaphtalène, pendant 16 heures à environ 5 °C. Elles ont ensuite été fixées à l'acide acétique à 90 p. 100 pendant une demi-heure à la température ambiante, puis stockées au réfrigérateur dans l'alcool à 70°. Elles ont été colorées par le réactif de Schiff, après lavage à l'eau et hydrolyse par l'acide chlorhydrique normal (12 minutes à 60 °C). Les préparations microscopiques ont été obtenues par écrasement des méristèmes entre lame et lamelle dans une goutte d'acéto-carmin de Belling.

L'analyse des comportements méiotiques a été effectuée dans les cellules mères du pollen, à partir de préparations microscopiques colorées à l'acéto-carmin ferreux de Belling et régressées à l'eau acétique à 45 p. 100. Ces préparations ont été obtenues par dissection d'anthères préalablement fixées avec un alcool acétique 3 : 1 auquel on a ajouté une petite quantité de perchlorure de fer en solution aqueuse saturée (une goutte pour 5 cc de fixateur).

### b) *Obtention des $F_1$*

Tous les grains $F_1$ ont été produits à partir de fleurs castrées et pollinisées manuellement dès réceptivité des stigmates c'est-à-dire environ 48 heures après l'ablation des étamines.

Cependant, étant donné le taux élevé d'avortements, nous avons dû recourir à la culture d'embryons immatures pour obtenir un nombre suffisant de $F_1$. Cet aspect de notre programme a été mené à bien grâce à la collaboration de J. Tempé, (la technique utilisée sera développée dans une autre publication). Dans ce cas, les grains ont été prélevés 10 à 15 jours après la fécondation. Après stérilisation, les embryons ont été isolés du grain et mis en culture *in vitro* sur milieu de Monnier jusqu'à différenciation des jeunes plantules et apparition des racines séminales; celles-ci ont alors été repiquées en pots et traitées comme les autres $F_1$ parvenues à maturité dans les conditions de culture normale.

### c) *Élevage des plantes*

Ces dernières ont été cultivées soit en serre, soit au champ.

Pour la culture en serre, les jeunes plantes parvenues au stade deux feuilles, ont tout d'abord été vernalisées pendant 40 jours dans une chambre aménagée pour cet usage (éclairage fourni par des tubes fluorescents ayant un spectre lumineux approprié à la croissance végétale, période d'illumination de huit heures par jour, température oscillant entre 5 et 10 °C).

Elles ont ensuite été cultivées dans une grande serre équipée d'un dispositif spécial permettant de contrôler l'éclairage et la température. Elles y ont été soumises à des éclairages de jours longs soit environ dix-sept heures. Les températures ont oscillé entre 19 et 24 °C le jour, entre 13 et 17 °C la nuit.

Dans l'autre type de culture, les plantes ont été maintenues en chassis, dans des petits pots individuels, pendant toute la période hivernale. Elles ont été repiquées en plein champ, à grand écartement (40 × 40) dès le mois de mars.

## Résultats

Au total, pour les croisements impliquant la lignée $TAF_1$ds, 31 plantes $F_1$ ont été obtenues parmi lesquelles 20 (16 + 4) avec l'*Ae. speltoides*, et 11 (11 + 0) avec l'*Ae. mutica* (*cf.* tabl. 1).

TABLEAU I

*Résultats des croisements,* (*$TAF_1$ds* × Ae. speltoides *ou* mutica)
(effectifs réels)

| | | $TAF_1$ds × *Ae. speltoides* | $TAF_1$ds × *Ae. mutica* |
|---|---|---|---|
| Cultures *in vitro* | Fleurs pollinisées .... | 145 | 196 |
| | Embryons germés .... | 18 | 12 |
| | Plantes viables ....... | 16 | 11 |
| Cultures au champ | Fleurs pollinisées .... | 110 | 108 |
| | Embryons germés .... | 5 | 3 |
| | Plantes viables ....... | 4 | — |

L'analyse cytologique a révélé quelques anomalies dans les nombres de chromosomes, qui se présentent de la manière suivante :

$F_1$ *$TAF_1$ds* × *Ae. speltoides*

$2n = 28t$ (27 chromosomes du Blé + *t* 3Agi L.) 12 plantes, normales

$2n = 27$ 8 plantes, déficientes pour le télosome d'*Agropyron*.

$F_1$ *$TAF_1$ds* × *Ae. mutica*

$2n = 28t$ 10 plantes, normales

$2n = 27t$ 1 plante, déficiente pour un chromosome du Blé.

Ces anomalies peuvent être dues à la formation de gamètes femelles aneuploïdes chez la lignée $TAF_1$ds, qui présente un certain taux d'irrégularité méiotique.

La plupart des plantes ont été prélevées et analysées en méiose. Pour 23 d'entre elles, nous avons pu établir un comportement méiotique moyen à partir de 100 cellules.

TABLEAU 2

*Comportement méiotique des $F_1$ ($TAF_1ds$ × Ae* sp

| Nº de la plante | I | | II | | | | | | III | | IV | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Total | | d | | a | | | | | | |
| | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. |
| 121.......... | 4,89 | 1-10 | 5,50 | 1-10 | 3,07 | 0-7 | 2,43 | 0-6 | 1,42 | 0-5 | 1,63 | 0-5 | 0,21 |
| 122.......... | 4,41 | 1-13 | 6,25 | 1-11 | 3,53 | 0-8 | 2,72 | 0-7 | 1,37 | 0-4 | 1,44 | 0-5 | 0,16 |
| 123.......... | 4,03 | 1-10 | 6,30 | 2-11 | 3,62 | 0-10 | 2,68 | 0-7 | 1,22 | 0-4 | 1,74 | 0-5 | 0,11 |
| 124.......... | 4,12 | 0-9 | 5,73 | 1-12 | 3,18 | 0-9 | 2,55 | 0-8 | 1,30 | 0-4 | 1,83 | 0-4 | 0,12 |
| 125.......... | 4,16 | 1-8 | 5,94 | 1-11 | 3,38 | 0-8 | 2,56 | 0-8 | 1,29 | 0-5 | 1,68 | 0-4 | 0,15 |
| 126.......... | 4,29 | 1-10 | 5,91 | 1-12 | 3,00 | 0-8 | 2,91 | 0-8 | 1,20 | 0-5 | 1,51 | 0-4 | 0,31 |
| 127.......... | 4,21 | 1-9 | 5,65 | 0-12 | 2,95 | 0-9 | 2,70 | 0-8 | 1,32 | 0-4 | 1,81 | 0-5 | 0,14 |
| 128.......... | 3,53 | 0-8 | 6,06 | 2-11 | 3,41 | 0-9 | 2,65 | 0-8 | 1,11 | 0-4 | 1,98 | 0-5 | 0,11 |
| 129.......... | 3,57 | 0-9 | 5,55 | 0-11 | 3,02 | 0-8 | 2,53 | 0-7 | 1,30 | 0-4 | 1,87 | 0-5 | 0,19 |
| Moyenne .... | 4,13 | 0-13 | 5,88 | 0-12 | 3,24 | 0-10 | 2,64 | 0-8 | 1,28 | 0-5 | 1,72 | 0-5 | 0,17 |

TABLEAU 3

*Comportement méiotique des $F_1$ ($TAF_1ds$ × Ae* sp

| Nº de la plante | I | | II | | | | | | III | | IV | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Total | | *d* | | *a* | | | | | |
| | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. |
| 131 ...... | 4,52 | 1-13 | 5,10 | 1-10 | 2,93 | 0-8 | 2,17 | 0-6 | 1,50 | 0-5 | 1,66 | 0-5 |
| 132 ...... | 3,62 | 0-9 | 5,67 | 1-10 | 2,95 | 0-7 | 2,72 | 0-9 | 1,25 | 0-4 | 1,67 | 0-4 |
| 133 ...... | 3,20 | 0-7 | 6,33 | 1-12 | 3,54 | 0-8 | 2,79 | 0-7 | 1,23 | 0-4 | 1,47 | 0-4 |
| 134 ...... | 3,31 | 0-10 | 5,90 | 1-11 | 3,21 | 0-8 | 2,69 | 0-8 | 1,18 | 0-4 | 1,75 | 0-4 |
| 135 ...... | 3,46 | 0-10 | 5,84 | 1-10 | 2,99 | 0-8 | 2,85 | 0-7 | 1,22 | 0-4 | 1,72 | 0-5 |
| Moyenne . | 3,62 | 0-13 | 5,76 | 1-12 | 3,12 | 0-8 | 2,64 | 0-9 | 1,28 | 0-5 | 1,65 | 0-5 |

2

speltoides), $2n = 28\ t\ (27 + t\ 3Agi\ L)$

| | VI | | VII | | VIII | | IX | | X | | Nombre de chiasmas par cellule | | | % de cell. avec *t* associé |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | ± σ | Ext. | |
| 0-2 | 0,03 | 0-1 | | | | | | | 0,01 | 0-1 | 17,27 | 0,19 | 11-21 | 8 |
| 0-1 | 0,04 | 0-1 | | | | | 0,02 | 0-1 | | | 17,51 | 0,29 | 9-24 | 4 |
| 0-2 | 0,01 | 0-1 | 0,02 | 0-1 | | | | | | | 17,78 | 0,22 | 12-23 | 2 |
| 0-2 | 0,10 | 0-1 | | | | | | | | | 17,87 | 0,20 | 14-24 | 9 |
| 0-1 | 0,08 | 0-1 | 0,02 | 0-1 | | | | | | | 17,91 | 0,22 | 12-22 | 7 |
| 0-2 | 0,07 | 0-1 | 0,04 | 0-1 | | | | | | | 17,95 | 0,18 | 15-23 | 5 |
| 0-1 | 0,07 | 0-1 | | | 0,01 | 0-1 | 0,01 | 0-1 | | | 18,22 | 0,21 | 13-23 | 3 |
| 0-1 | 0,04 | 0-1 | 0,01 | 0-1 | 0,03 | 0-1 | | | | | 18,44 | 0,22 | 14-23 | 7 |
| 0-2 | 0,05 | 0-1 | 0,05 | 0-1 | 0,01 | 0-1 | 0,03 | 0-1 | | | 18,53 | 0,19 | 13-23 | 6 |
| 0-2 | 0,05 | 0-1 | 0,02 | 0-1 | 0,01 | 0-1 | 0,01 | 0-1 | — | — | 17,94 | | 9-24 | 5,66 |

3

speltoides) *déficientes pour le télosome d'*Agropyron, $2n = 27$

| V | | VI | | VII | | VIII | | IX | | Nombre de chiasmas par cellule | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | ± σ | Ext. |
| 0,15 | 0-1 | 0,05 | 0-1 | 0,01 | 0-1 | 0,01 | 0-1 | 0,01 | 0-1 | 16,83 | 0,21 | 11-22 |
| 0,18 | 0-1 | 0,06 | 0-1 | 0,05 | 0-1 | | | | | 17,72 | 0,25 | 11-25 |
| 0,16 | 0-2 | 0,10 | 0-1 | | | 0,01 | 0-1 | 0,01 | 0-1 | 17,77 | 0,19 | 12-22 |
| 0,17 | 0-1 | 0,06 | 0-1 | 0,02 | 0-1 | | | | | 17,83 | 0,21 | 13-24 |
| 0,14 | 0-1 | 0,08 | 0-1 | 0,02 | 0-1 | | | | | 18,02 | 0,23 | 12-23 |
| 0,16 | 0-2 | 0,07 | 0-1 | 0,02 | 0-1 | 0 | 0-1 | 0 | 0-1 | 17,63 | | 11-25 |

Les résultats des analyses, qui serviront de base de discussion, sont portés dans les tableaux 2, 3 et 4. Ils concernent 9 plantes de chacune des catégories de $F_1$ normales, et 5 plantes de la catégorie déficiente pour le télosome d'*Agropyron*; ces dernières ont été utilisées comme témoins.

On peut constater que les plantes $F_1$ avec ou sans télosome d'*Agropyron* et issues du croisement avec l'*Ae. speltoides* ont des comportements méiotiques très homogènes (tabl. 2 et 3). Dans ce groupe l'efficacité du système génétique susceptible de neutraliser l'effet de l'allèle *Ph* est évident; les appariements homéologues intergénomiques sont fréquents et ils concernent non seulement les chromosomes des quatre génomes ABDS mis en présence (associations de 2, 3 ou 4 chromosomes), mais également le télosome d'*Agropyron* (51 associations hétéromorphes parmi lesquelles 14″, 16‴, $18^{IV}$, $3^{V}$, *cf.* planche I, photos 1, 2, 3. Les fréquences d'association de ce dernier avec d'autres chromosomes sont toutefois assez faibles (2 à 9 p. 100, moyenne 5,67 p. 100). Des multivalents en chaîne pouvant englober de 5 à 10 chromosomes, et sur lesquels nous reviendrons au cours de la discussion ont également été observés (planche I, photos 1, 3, 6, 7 et 8).

A l'inverse, (tabl. 4) les moyennes obtenues par l'analyse d'échantillons de 100 cellules mères du pollen chez les hybrides impliquant l'*Ae. mutica* se sont révélées très hétérogènes. Les appariements homéologues induits par la présence de l'*Aegilops* sont très variables, en général assez faibles et toujours inférieurs à ceux des $F_1$ précédentes. Les multivalents sont rares et le télosome d'*Agropyron* n'est associé que dans 4 des 900 cellules analysées en $M_I$ (3 ht″ et 1 $ht^{V}$).

En définitive, les différences de comportement méiotique entre les deux types de croisement sont assez bien définies par les nombres de chiasmas par cellule. En effet, dans le groupe d'hybrides impliquant *Ae. speltoides*, les moyennes calculées pour chaque plante (tabl. 2 et 4) s'échelonnent entre 16,83 et 18,02 chez les témoins (tabl. 3) et, entre 17,27 et 18,53 chez les $F_1$ (tabl. 2). Comme les méioses, elles sont donc très groupées. Par contre chez les hybrides avec *Ae. mutica* les moyennes sont très faibles, très dispersées (1,71 à 10,43), avec des écarts souvent importants (tabl. 4).

Par l'analyse factorielle des correspondances, effectuée à partir du tableau à double entrée : nombre de chiasmas par cellule, nombre de cellules pour chaque plante, on constate que l'espace engendré par les deux premiers axes représente 75 p. 100 de l'inertie totale. On peut donc faire figurer simultanément les sujets et les attributs sur le plan défini par ces deux axes.

Cette représentation (fig. 1) montre :

1) que les attributs (nombre de chiasmas par cellule) se rangent suivant une courbe d'allure parabolique de façon régulière pour les classes 0 à 12 et de façon très groupée pour les classes 15 à 23 (les classes 13 et 14 occupent une position intermédiaire).

2) *que les sujets* (nombre de cellules par plante) se groupent d'une façon analogue :

*a*) le groupe *mutica* se répartit sur la même branche de courbe que les classes de chiasmas 0 à 12 et montre ainsi une grande variabilité.

TABLEAU 4

*Comportement méiotique des $F_1$ ($TAF_1ds$ × Ae. mutica), $2n = 28\ t\ (27 + t\ 3Agi\ L)$*

| N° de la plante | I | | II | | | | | | III | | IV | | V | | Nombre de chiasmas par cellule | | | % de cellules avec *t* associé |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Total | | d | | a | | | | | | | | | | | |
| | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | Ext. | Moy. | ± σ | Ext. | |
| 111 ....... | 24,68 | 17-28 | 1,54 | 0-5 | 1,53 | 0-5 | 0,01 | 0-1 | 0,08 | 0-1 | | | | | 1,71 | 0,14 | 0-6 | 0 |
| 112 ....... | 22,23 | 14-28 | 2,62 | 0-7 | 2,53 | 0-7 | 0,07 | 0-1 | 0,19 | 0-1 | | | | | 3,05 | 0,16 | 0-7 | 0 |
| 113 ....... | 21,84 | 12-28 | 2,84 | 0-8 | 2,72 | 0-8 | 0,12 | 0-3 | 0,16 | 0-2 | | | | | 3,28 | 0,18 | 0-8 | 0 |
| 114 ....... | 19,36 | 12-28 | 3,56 | 0-7 | 3,35 | 0-6 | 0,21 | 0-2 | 0,44 | 0-2 | 0,05 | 0-1 | | | 4,80 | 0,17 | 0-8 | 0 |
| 115 ....... | 15,88 | 9-24 | 4,58 | 1-8 | 4,31 | 1-8 | 0,27 | 0-2 | 0,82 | 0-4 | 0,10 | 0-2 | 0,02 | 0-1 | 6,87 | 0,21 | 2-12 | 0 |
| 116 ....... | 15,13 | 9-28 | 5,15 | 0-8 | 4,55 | 0-8 | 0,60 | 0-3 | 0,60 | 0-3 | 0,18 | 0-2 | 0,01 | 0-1 | 7,53 | 0,21 | 1-12 | 2 |
| 117 ....... | 14,08 | 7-28 | 5,10 | 0-10 | 4,22 | 0-8 | 0,88 | 0-3 | 0,98 | 0-3 | 0,17 | 0-2 | 0,02 | 0-1 | 8,55 | 0,24 | 0-14 | 0 |
| 118 ....... | 13,36 | 5-22 | 4,88 | 1-10 | 3,84 | 1-8 | 1,04 | 0-5 | 1,10 | 0-3 | 0,32 | 0-2 | 0,06 | 0-1 | 9,35 | 0,25 | 4-17 | 1 |
| 119 ....... | 11,40 | 4-20 | 5,76 | 1-10 | 4,66 | 0-8 | 1,10 | 0-4 | 1,18 | 0-3 | 0,36 | 0-2 | 0,02 | 0-1 | 10,43 | 0,24 | 6,17 | 1 |
| Moyenne .. | 17,55 | 4-28 | 4,00 | 0-10 | 3,52 | 0-8 | 0,48 | 0-5 | 0,62 | 0-4 | 0,13 | 0-2 | 0,01 | 0-1 | 6,17 | | 0-17 | 0,44 |

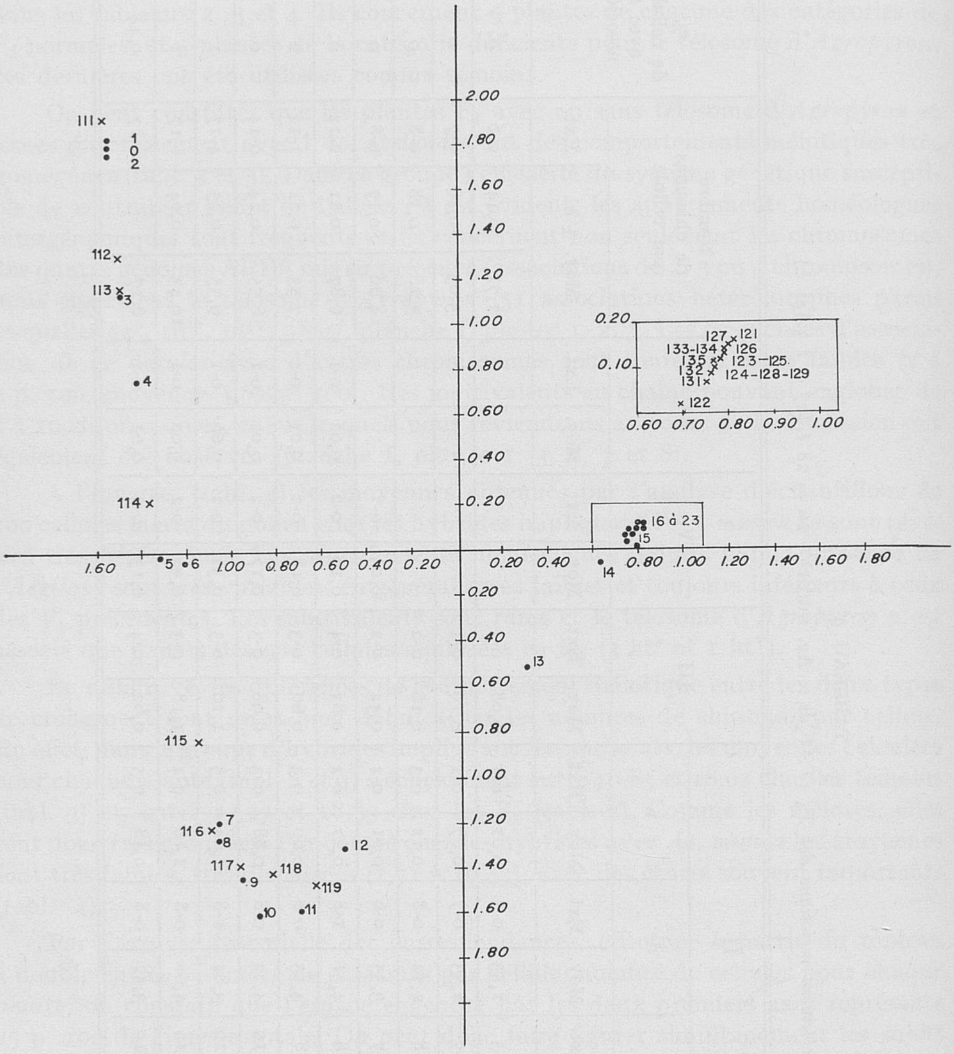



FIG. 1. — *Analyse factorielle des correspondances*
*Associations observées chez les hybrides* $F_1$

*Sujets :* nombre de cellules par plante : ×

111 à 119 hybrides $F_1$ $TAF_1ds$ × *Ae. mutica*
121 à 129 — $TAF_1ds$ × *Ae. speltoides*
131 à 135 — V. 27 × *Ae. speltoides*

*Attributs :* nombre de chiasmas par cellule. 0 à 23.

*b*) les deux groupes *speltoides* sont, au contraire concentrés dans la même région que les classes 14 à 23 chiasmas par cellule. Ces deux derniers groupes paraissent donc à la fois très homogènes et très semblables.

## Discussion et Conclusion

Nos résultats montrent donc bien que les deux souches d'*Aegilops* utilisées dans les croisements sont susceptibles d'induire des recombinaisons homéologues Blé × Blé(*) aussi bien que Blé × *Agropyron*. Ils confirment ainsi l'étroite parenté du chromosome d'*Agropyron* avec les chromosomes du Blé tendre. Ils indiquent également que, dans les cas favorables, la fréquence d'appariement du télosome d'*Agropyron* avec les chromosomes du Blé est suffisante pour permettre le transfert du ou des gènes responsables de la résistance à la Rouille brune sur les chromosomes du Blé. Mais les deux souches n'ont pas le même comportement et les différences sont significatives : étant donné que $TAF_1$ds est une lignée pure, cette situation ne peut être imputée qu'au parent *Aegilops*. On pourrait conclure à l'existence de deux systèmes génétiques différents.

Nous savons cependant que des analyses similaires ont permis de mettre en évidence chez les deux espèces une variabilité génétique intraspécifique, pour leur aptitude à lever l'effet inhibiteur de l'allèle *Ph*.

En ce qui concerne *Ae. speltoides*, celle-ci a été déduite de l'étude de deux types de croisements :

— les uns impliquent le Blé « Chinese Spring » et quelques uns de ses dérivés aneuploïdes (Dover et Riley, 1971, 1972*b*; Vardi et Dover, 1972);

— les autres, des lignées d'addition, Blé × *Agropyron elongatum* 10 *x*, Blé × *Agropyron elongatum* 2 *x*, (Dvorak et Knott, 1972; Dvorak, 1972).

Dans leur matériel, Dover *et al.* observent d'abord trois, puis finalement quatre niveaux d'appariement significativement différents, avec des moyennes de chiasmas par cellule de 0,93 (niveau I, faible), 3,27 (niveau II, intermédiaire faible), 9,32 (niveau III, intermédiaire fort) et 16,30 (niveau IV, fort). Ils émettent l'hypothèse d'un déterminisme complexe différent de celui de l'allèle *Ph*, avec probablement au moins deux couples d'allèles en jeu. Avec un matériel moins abondant et plus hétérogène, Dvorak observe trois niveaux d'appariement avec, en moyenne, respectivement 6,4, 10,4 et 15 chiasmas par cellule; il conclut à la présence de trois gènes ou génotypes, avec chacun une aptitude différente à supprimer l'effet de l'allèle *Ph*.

La même variabilité se retrouve chez les hybrides issus de croisement entre « Chinese Spring » et *Ae. mutica* ainsi que le montrent des analyses précises effectuées par Dover *et al.* (travaux déjà cités). Celles-ci portent sur la méiose de 48 plantes $F_1$ obtenues à partir de sept parents mâles tirés d'une population d'*Ae. mutica* hétérozygote pour le caractère étudié. L'analyse statistique permet de constater

(*) Un haploïde isolé au laboratoire dans la lignée $TAF_1$ds a présenté un comportement très asyndétique (moyenne pour 50 cellules analysées : $20{,}10' + 0{,}86''$ droits $+ 0{,}06'''$, avec 0,98 chas/cellule) et le télosome toujours à l'état d'univalent).

que les comportements méiotiques (exprimés en nombre de chiasmas par cellule) se répartissent en quatre classes avec les moyennes respectives de 1,51, 4,13, 7,06 et 12,91 chiasmas par cellule. Les résultats globaux laissent à penser que les sept plantes d'*Ae. mutica* utilisées dans les croisements ont produit quatre type de gamètes, les auteurs formulent donc l'hypothèse d'un système génétique à deux loci possédant chacun deux allèles différents.

Compte tenu du contexte bibliographique et de notre analyse statistique, nous pouvons admettre que notre souche d'*Ae. speltoides* est homozygote pour les allèles dominants du système génétique capable de neutraliser l'effet de l'allèle *Ph*. Les moyennes de chiasmas par cellule que nous avons tirées de nos analyses (17,94 avec et 17,63 sans le télosome d'*Agropyron*) sont toutefois légèrement supérieures à celles du niveau IV de DOVER. Ces différences qui ne sont d'ailleurs probablement pas significatives, peuvent s'expliquer du fait de la présence d'associations multivalentes englobant jusqu'à 10 chromosomes. Il s'agit en fait d'une situation exceptionnelle que nous ne pouvons attribuer que très partiellement à la structure particulière de $TAF_1$ds (déficiente pour le chromosome 5BS/7BS, avec 5 chromosomes au lieu de 4 pour le groupe d'homéologie 3 auquel se rattache le télosome 3Agi L). La présence du chromosome mixte 5BL/7BL justifie celle des heptavalents (associations entre les chromosomes des groupes d'homéologie 5 et 7). La présence du chromosome 3Agi L explique d'autre part la formation occasionnelle d'un hétéropentavalent (*cf.* planche I, photo 3). Il reste encore à élucider l'apparition d'associations de plus de sept chromosomes qui peuvent être dues à la présence d'autres translocations probablement moins importantes soit dans les génomes de « V. 27 », soit dans celui de l'*Aegilops*. Il faut souligner cependant que, dans un matériel très voisin (*cf.* tabl. 5) CAUDERON et RYAN n'avaient observé aucune association de plus de sept chromosomes.

Dans ce matériel, le télosome d'*Agropyron* est apparié dans 5,66 p. 100 des cellules. Ce pourcentage est relativement faible si l'on considère l'effet de cet *Aegilops* sur les chromosomes du Blé, et si on le compare aux résultats obtenus par quelques auteurs dans le cadre de programmes similaires, (*cf.* tabl. 5). Pour toutes les analyses, on a toujours utilisé des lignées d'addition avec des chromosomes additionnels marqués cytologiquement (télocentriques ou acrocentriques) et, dans la plupart des cas, on a pu établir la comparaison avec les chromosomes du Blé en partant des lignées ditélosomiques de « Chinese Spring ». On peut constater que les pourcentages d'appariement sont extrêmement variables (4,8 à 52,9 p. 100) mais on ne peut guère expliquer ces différences étant donné la diversité du matériel (génotype du Blé, origine, morphologie et groupe d'homéologie du chromosome additionnel). On peut remarquer toutefois qu'avec le télosome 7Agi L, CAUDERON et RYAN ont obtenu un pourcentage de recombinaison presque trois fois supérieur.

En ce qui concerne *Ae. mutica*, nous avons pu confirmer la variabilité observée par DOVER chez les $F_1$ « Chinese Spring » × *Ae. mutica*, avec des moyennes de chiasmas par cellule qui s'échelonnent très progressivement de 1,71 à 10,43. Mais nos résultats ne nous permettent ni d'infirmer, ni de confirmer, l'hypothèse du système génétique à deux loci et quatre allèles proposés par cet auteur. En effet, d'une part les analyses ont porté sur des effectifs trop faibles, d'autre part nous

TABLEAU 5

*Étude comparative des pourcentages d'appariements homéologues induits par le système génétique d'*Ae. speltoides

| Auteurs | Date | Génotype Blé receveur | Espèce et chromosome étranger additionnel | % d'appariement du chromosome étranger | % d'appariement des chromosomes du Blé | Groupe d'homéologie du chromosome étranger et résistance aux Rouilles |
|---|---|---|---|---|---|---|
| JOHNSON et KIMBER | 1967 | $F_1$ ditélo C. Spring (21) × Thatcher | *A. elongatum* 10 *x* télocentrique | 4,8 (0-10,8) | 51,1 (34-71,3) 21 télosomes | 6 (Rouille noire) |
| KIMBER | 1968 | $F_1$ ditélo C. S. (génome B) × C. Spring | *Ae. umbellulata* acrocentrique (D) | 52,9 (34-66) | 77,7 (66-88) 7 télosomes | 1 |
| ATHWAL et KIMBER | 1972 | $F_1$ ditélo C. S. (22) × C. Spring | *Ae. umbellulata* acrocentrique (A) | 15 (8-28,1) | 43,2 (22,7-56,5) 22 télosomes | 6 (Rouille brune) |
| DVORAK et KNOTT | 1972 | Agrus × Thatcher | *A. elongatum* 10 *x* télocentrique | 12,9 (12,3-13,5) | 77 p. 100 1 télosome, 7A | 7 (Rouille brune) |
| CAUDERON et RYAN | 1974 | Vilmorin 27 | *A. intermedium* télocentrique | 15 (1 plante) | non évalué (18,49 ch/cell) | 7 (Rouille noire) |
| CHUECA et CAUDERON | — | Vilmorin 27 (déficience 5BS/7BS) | *A. intermedium* télocentrique | 5,66 (2-9) | non évalué (18,94 ch/cell) | 3 (Rouille brune) |

avons travaillé avec des populations de gamètes. Des études en cours nous permettrons peut-être d'apporter d'autres précisions.

De toute façon, dans le cadre de l'objectif que nous nous étions fixé au départ — obtenir le transfert des gènes de la Rouille brune issue d'*Agropyron intermedium* sur les chromosomes du Blé — l'intérêt de cette espèce reste aléatoire. En effet même si l'on peut obtenir une souche homozygote, susceptible d'induire un haut niveau d'appariement homéologue, chez les chromosomes du Blé, on peut douter de son efficacité vis-à-vis du chromosome d'*Agropyron* : dans notre matériel, même dans les cas favorables, le télosome d'*Agropyron* ne s'est apparié qu'exceptionnellement : 3 plantes, 4 cellules (*cf.* tabl. IV).

Ainsi, cette étude a permis de montrer, qu'il était possible d'induire des recombinaisons Blé/*Agropyron intermedium* par le biais de l'hybridation avec des *Aegilops*. Elle confirme donc l'intérêt de telles méthodes dans les programmes de sélection par introgression.

Dans le cas de notre matériel, seul *Ae. speltoides* peut présenter, dans l'immédiat, un intérêt du point de vue pratique.

Cette méthode d'introgression reste néanmoins délicate du fait de la difficulté rencontrée au niveau de la réalisation des $F_1$ et de la nécessité de sélectionner une souche d'*Aegilops* homozygote pour le niveau inducteur optimal.

*Reçu pour publication en juillet* 1976

## Remerciements

Nous tenons à remercier tout particulièrement M. J. ARNOUX, Laboratoire de Biométrie de Versailles, qui a fait l'analyse statistique présentée dans ce travail; M. J. TEMPÉ, Laboratoire de Biologie moléculaire, Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes de Versailles, sans l'aide duquel nous n'aurions pu obtenir ces résultats, ainsi que le Dr E. SANCHEZ-MONGE et M. G. SALESSES, qui ont bien voulu se charger de la lecture de cet article.

Ce travail a été réalisé au cours d'un stage effectué par Maria-Cristina CHUECA au Laboratoire de Cytogénétique de la Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes de Versailles grâce à l'attribution d'une bourse I.N.I.A.-B.I.R.F.

## Summary

*The pairing of an alien* Agropyron *telosome with wheat chromosomes by homoeologous pairing using* Aegilops

In order to go further into the transfer of (a) gene(s) for leaf rust resistance coming from *Agropyron intermedium* into wheat chromosomes, an *Agropyron* ditelosomic substitution line TAF 1 ds has been crossed with *Aegilops speltoides* or *Aegilops mutica* liable to induce homoeologous pairing.

The meiotic behaviour of nine hybrid plants in each type of crosses has been studied and the mean percentage of homoeologous pairing between the *Agropyron* telosome and the wheat chromosomes has been calculated. Its value attains 5,66 p. 100 with the hybrids implying *Ae. speltoides* and only 0,44 p. 100 with the other ones.

The mean chiasma frequencies per cell in the two types of hybrids indicate obvious differences between *Ae. speltoides* and *Ae. mutica.* The *Ae .speltoides* used in the crosses is more efficient and it is homozygous for the ability to induce homoeologous pairing, whereas the *Ae. mutica* is heterozygous.

So, it was demonstrated that it is possible to induce homoeologous pairing Wheat/*A. intermedium* by the way of an hybridization with this *Aegilops* (mainly *Ae. speltoides*). Meanwhile it should be kept in mind that this method raises some problems, among others is the difficulty for obtaining the hybrids and the necessity to choose an efficient *Aegilops*.

## Références bibliographiques

ATHWAL R. S., KIMBER G., 1972. The pairing of an alien chromosome with homoeologous chromosomes of wheat. *Can. J. Genet. Cytol.* **14**, 325-333.

CAUDERON Y., 1966. Étude cytogénétique de l'évolution du matériel issu de croisements entre *Triticum aestivum* et *Agropyron intermedium*. *Ann. Amélior. Plant.*, **16**, 43-70.

CAUDERON Y., 1971. Hybridation interspécifique. *Séminaire « Jeunes Chercheurs » en Amélioration des Plantes : hybridation interspécifique, stérilité mâle, Haploïdie*, Avignon les 5, 6 et 7 octobre.

CAUDERON Y., 1973. Cytogénétique et Amélioration du Blé. *Le Sélectionneur Français*, **19**, 89-101.

CAUDERON Y., 1973-1974. The analysis of the chromosome interchange 5B/7B in Vilmorin 27 and its effect on yellow rust resistance. *EWAC Newsletter*, **4**, 25-27.

CAUDERON Y., RYAN G., 1974. *Aegilops speltoides* promotion of homoeologous pairing in one *Triticum aestivum* × *Agropyron intermedium* derivative. *Wheat Inf. Serv.*, **39**, 1-5.

CAUDERON Y., SAIGNE B. and DAUGE M., 1973. The resistance to wheat rusts of *Agropyron intermedium* and its use in wheat improvement. *Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symposium*, Columbia, Missouri, U.S.A. 401-407.

CHAPMAN V., RILEY R., 1966. The allocation of the chromosomes of *Triticum aestivum* to the A and B genomes and evidence on genome structure. *Can. J. Genet. Cytol.* **8**, 57-63.

CHUECA M.-C., TEMPÉ J., CAUDERON Y. (en préparation).

DOVER G.-A., RILEY R., 1971. The genetics of the loci responsible for the control of homoeologous pairing in wheat/*Aegilops mutica* and wheat/*Aegilops speltoides* hybrids. *EWAC Newsletter*, **3**, 48-50.

DOVER G.-A., RILEY R., 1972. a) Variation at two loci affecting homoeologous meiotic chromosome pairing in *Triticum aestivum* × *Aegilops mutica* hybrids. *Nature : New. Biol.*, **235**, 61-62.

DOVER G.-A., RILEY R., 1972. b) Prevention of pairing of homoeologous meiotic chromosomes of wheat by an activity of supernumerary chromosomes of *Aegilops*. *Nature* (*Lond.*), **240**, 159-161.

DRISCOLL C.-J., 1972. Genetic suppression of homoeologous chromosome pairing in hexaploid wheat. *Can. J. Genet. Cytol.*, **14**, 39-42.

DRISCOLL C.-J., QUINN C.-J., 1970. Genetic variation in *Triticum* affecting the level of chromosome pairing in intergeneric hybrids. *Can. J. Genet. Cytol.* **12**, 278-282.

DVORAK J., 1972. Genetic variability in *Aegilops speltoides* affecting homoeologous pairing in wheat. *Can. J. Genet. Cytol.*, **14**, 371-380.

DVORAK J., KNOTT D.-R., 1972. Homoeologous pairing of specific *Agropyron elongatum* ($2n = 70$) chromosome with wheat chromosomes. *Wheat Inf. Serv.*, **33-34**, 35-37.

FELDMAN M., 1966. The effect of chromosomes 5B, 5D and 5A on chromosomal pairing in *Triticum aestivum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **55**, 1447-1453.

JOHNSON R., KIMBER G., 1967. Homoeologous pairing of a chromosome from *Agropyron elongatum* with those of *Triticum aestivum* and *Aegilops speltoides*. *Genet. Res.* Camb., **10**, 63-71.

KIMBER G., 1968. The relationships of single alien chromosomes to the homoeologous groups of *T. aestivum*. *Proc.* 3rd *Int. Wheat Genet. Symp.* Camb., 62-68.

KIMBER G., SALLEE P.-J., 1973. The effect of *Triticum longissimum* on chromosome pairing in hybrids with wheat. *Cereal Res. Commun*, **1**, 5-12.

MELLO-SAMPAYO T., 1971. Promotion of homoeologous pairing in hybrids of *Triticum aestivum* × *Aegilops longissima*. *Genet. Iber.*, **23**, 1-9.

MELLO-SAMPAYO T., CANAS A.-P., 1973. Suppressors of meiotic chromosome pairing in common wheat. *Proc.* 4th *Int. Wheat Genet. Symp.* Columbia, Missouri, U.S.A. 1973, 709-713.

OKAMOTO M., 1962. Identification of the chromosomes of common wheat belonging to the A and B genomes. *Can. J. Genet. Cytol.* **4**, 31-37.

RILEY R., 1966. The genetic regulation of meiotic behaviour in wheat and its relatives. *Proc. of the* 2nd *Int. Wheat Genet. Symposium*, Lund, 1963. *Hereditas*, Suppl. **2**, 395-408.

RILEY R., 1972. Fundamento genetico do emparelhamento cromossomico na meiose de trigo (Port-an). *Melhoramento*, **24**, 45-60.

RILEY R., 1974. Cytogenetics of chromosome pairing in wheat. *Proc.* 13[th] *Int. Congr. Genet.* Berkeley 1973. *Genetics*, **78**, I, 193-203.

RILEY R., CHAPMAN V., 1963. The effects of the deficiency of chromosome V (5B) of *Triticum aestivum* on the meiosis of synthetic amphiploids. *Heredity* **18**, 473-484.

RILEY R., CHAPMAN V., 1964. The effect of the deficiency of the long arm of the chromosome 5B on meiotic pairing in *Triticum aestivum*. *Wheat Inf. Serv.* **17**, 12-15.

RILEY R., CHAPMAN V., 1966. Estimates of the homoeology of wheat chromosomes by measurements of differential affinity at meiosis. In RILEY R., LEWIS K.-R. (Ed.) *Chromosome manipulations and Plant Genetics*, 46-58, Oliver and Boyd, Edinburgh and London 123 pp. suppl. *Heredity* **20**, 1965.

RILEY R., KEMPANNA C., 1963. The homoeologous nature of the non-homologous meiotic pairing in *Triticum aestivum* deficient for chromosome V (5B). *Heredity*, **18**, 287-306.

RILEY R., KIMBER G., 1966. The transfer of alien genetic variation to wheat. *Plant Breed. Inst.*, Cambridge *Annu. Rep.*, 6-36, 1967-65.

RILEY R., LAW C.-N., 1965. Genetic variation in chromosome pairing. *Adv. Genet.*, **13**, 57-114.

RILEY R., CHAPMAN V., JOHNSON R., 1968. The incorporation of alien disease resistance in wheat by genetic interference with the regulation of meiotic chromosome synapsis. *Genet. Res. Camb.*, **12**, 199-219.

RYAN G., 1975. *Transferts chromosomiques chez le Blé tendre* (Triticum aestivum). *Étude de descendances d'hybrides interspécifiques. Résistances génétiques à la Rouille noire dérivées de l'*Agropyron intermedium *et de l'*Aegilops speltoides. Thèse de docteur ingénieur. Univer. Paris-Sud, Orsay, 123 p.

SEARS E.-R., 1954. The aneuploids of common wheat. *Mo. agric. exper. Stat. Res. Bull.*, **572**, 58 pp.

SEARS E.-R., 1966. Nullisomic-tetrasomic combinations in hexaploid wheat. In *Chromosome manipulations and plant genetics*. RILEY R., LEWIS K.-R. (Ed.) *Heredity* Supp. **20**, 29-45.

SEARS E.-R., 1972. Chromosome engineering in wheat. *Stadler Genet. Symposia*, (Univ. Mo. Columbia) **4**, 23-38.

SEARS E.-R., 1973. Agropyron-wheat transfers induced by homeologous pairing. *Proc.* **4** *Int. Wheat Genet. Symp.*, Columbia, Missouri U.S.A. 191-199.

THE T.-T., BAKER E.-P., 1970. Homoeologous relationships between two *Agropyron intermedium* chromosomes and wheat. *Wheat Inf. Serv.* **31**, 29-31.

VARDI A. and DOVER G.-A., 1972. The effect of B chromosome on meiotic and pre-meiotic spindles and chromosome pairing in *Triticum/Aegilops* hybrids. *Chromosoma*, **38**, 367-385.

WALL A.-M., RILEY R., GALE M.-D., 1971. The position of a locus on chromosome 5B of *Triticum aestivum* affecting homoeologous meiotic pairing. *Genet. Res.* Camb., **18**, 329-339.

---

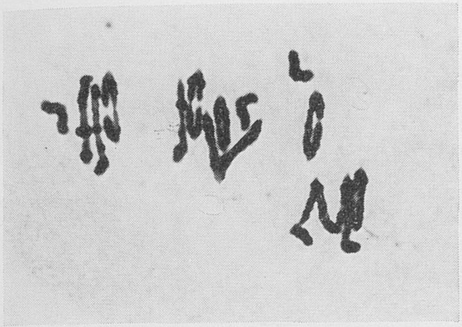
## PLANCHE I.

*Comportement méiotique* ($M_I$) *des* $F_1$ :

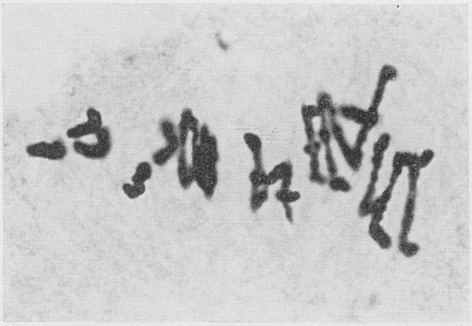
*TAF1ds* × Ae. speltoides (1 à 5) *et V.* 27 × Ae. speltoides (6 à 8)

1) $2n = 28$ ($t$) : $1^{V}$, $1^{IV}$, $8''$ ($5a + 3d$ dont $1ht$) $+ 3'$
2) $2n = 28$ ($t$) : $4^{IV}$ (dont $1ht$), $3''$ ($1a + 2d$), $6'$
3) $2n = 28$ ($t$) : $1^{V}$ ($ht$), $1^{IV}$, $1'''$, $5''$, ($3a + 2d$), $6'$
4) $2n = 28$ ($t$) : $3^{IV}$, $2'''$, $2''$ ($1a + 1d$), $6'$ (dont $1t$)
5) $2n = 28$ ($t$) : $1^{X}$, $1^{IV}$, $1'''$, $4''$ ($3a + 1d$), $3'$ (dont $1t$)
6) $2n = 27$ : $1^{V}$, $1^{IV}$. $2'''$, $5''$ ($2a + 3d$), $2'$
7) $2n = 27$ : $1^{IX}$, $2'''$, $5''$ ($4a + 1d$), $2'$
8) $2n = 27$ : $5^{IV}$, $1''d$, $5'$

$t$ = télosome; $ht$ = association hétéromorphe
$d$ = bivalent droit; $a$ = bivalent en anneau



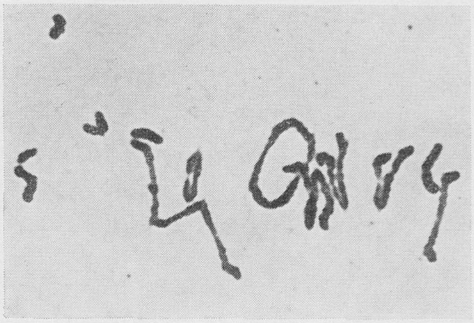
1



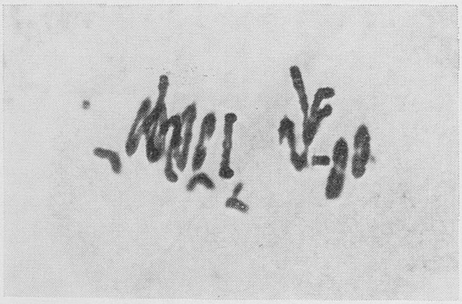
2



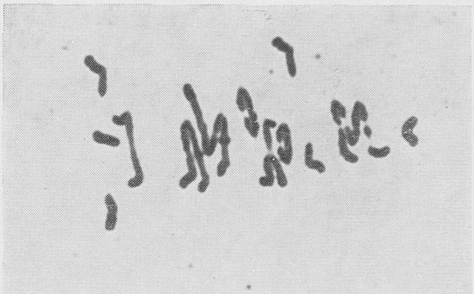
3



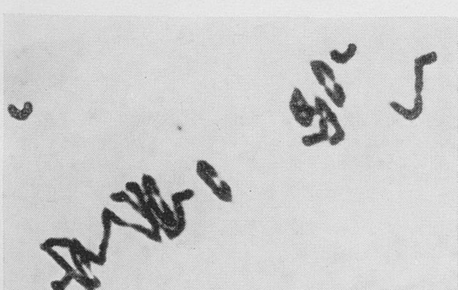
4



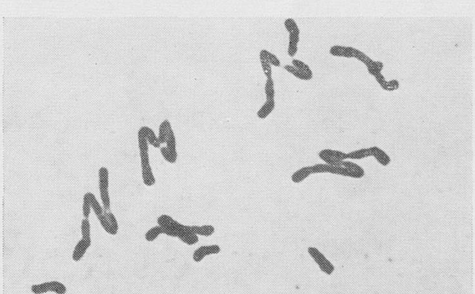
5



6



7



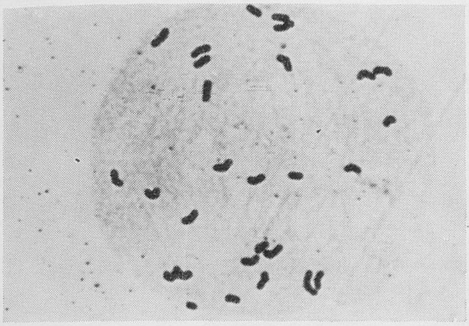
8

Maria-Cristina CHUECA et Yvonne CAUDERON

## PLANCHE II

*Comportement méiotique* ($M_I$) *des* $F_1$ : *TAF1ds* × Ae. mutica

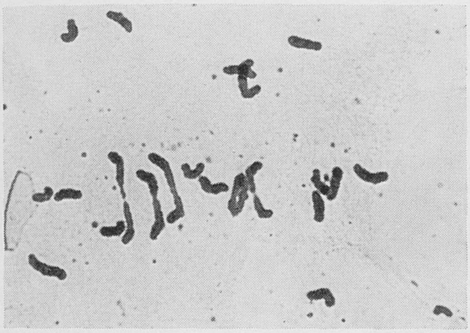
1) $2n = 28$ ($t$) : $28'$ (dont 1$t$)
2) $2n = 28$ ($t$) : $2''$ ($d$), $26'$ (dont 1$t$)
3) $2n = 28$ ($t$) : $5''$ (1$a$ + 4$d$), $18'$ (dont 1$t$)
4) $2n = 28$ (t) : $1^{IV}$, $5''$ ($d$), $14'$ (dont 1$t$)
5) $2n = 28$ ($t$) : $1^{V}$, $1'''$, $3''$ (1$a$ + 2$d$), $14'$ (dont 1$t$)
6) $2n = 28$ ($t$) : $2'''$, $5''$ ($d$ dont 1$ht$), $12'$



1



2



3



4



5



6

Maria-Cristina CHUECA et Yvonue CAUDERON

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (2), 151-169.

# Premiers résultats concernant l'obtention *in vitro* de néoformations caulinaires chez la Vigne

J.-M. FAVRE

*Laboratoire de Botanique approfondie associé au C.N.R.S., Centre universitaire, 91405 Orsay Cedex*

## Résumé

L'utilisation de limbes foliaires provenant de plantes multipliées *in vitro*, permet, chez plusieurs cépages, d'obtenir des néoformations caulinaires qui peuvent donner naissance à des clones.

## Introduction

L'application à la Vigne des techniques de culture *in vitro* est déjà relativement ancienne. Dès l'origine elle a été envisagée comme un moyen d'approche original de problèmes liés à l'amélioration et à la pathologie.

Deux possibilités essentielles se sont ainsi ouvertes : la survie et le développement *in vitro* de portions de plantes d'une part, la callogenèse et la néoformation d'organes d'autre part.

Parmi les résultats obtenus dans le cadre de la première éventualité, l'installation *in vitro* de clones, à partir de bourgeons provenant de plantes cultivées dans les conditions naturelles, présente un intérêt tout particulier. Ce procédé mis au point au laboratoire de R. NOZERAN par GALZY (1961) et perfectionné ensuite par le même auteur (1969*a*) est, en effet, aujourd'hui utilisé pour la réalisation de traitements par thermothérapie qui permettent d'éliminer avec une grande efficacité certaines viroses comme le Court-noué (GALZY, 1961, 1964, 1966, 1969*b*; PENAS-IGLESIAS, AYUSO, 1973), l'Enroulement et la Marbrure (MUR, VALAT, BRANAS, 1972; VALAT, MUR, 1976).

Dans l'avenir, d'autres possibilités pourront peut-être s'ouvrir dans le domaine de la lutte contre les viroses à la suite de la mise au point de la culture *in vitro* d'apex isolés (GALZY, 1972).

En ce qui concerne la deuxième éventualité, la formation de cals a été obtenue

à partir de nombreux types de fragments : tiges (MOREL, 1944, 1948; FALLOT, 1954; PELET, HILDEBRANDT, RIKER, SKOOG, 1959; ALLEWELDT et RADLER, 1961; ARYA, HILDEBRANDT, RIKER, 1962; STAUDT, BORNER et BECKER, 1972...) pétioles (STAUDT, BORNER et BECKER, 1972), baies (RADLER, 1964; HAWKER, DOWNTON, WISKICH, MULLINS, 1973), galles foliaires induites par *Phylloxera vastatrix* (PELET, HILDEBRANDT, RIKER, SKOOG, 1959; RILLING et RADLER, 1960; ARYA, HILDEBRANDT, RIKER, 1962), anthères (GRESSHOFF et DOY, 1974).

Dans certains cas, ces cals ont pu être à l'origine de lignées monocellulaires (ARYA, HILDEBRANDT, RIKER, 1962) ou de protoplastes (SKENE, 1974).

La callogenèse peut être accompagnée d'une activité organogène plus ou moins intense selon les conditions de milieu, de température, de photopériode, mais toujours de nature rhizogène. Aucune néoformation caulinaire n'a jusqu'à présent été obtenue.

Il s'agit là d'une lacune dont la disparition ouvrirait des perspectives d'un grand intérêt (NOZERAN et BANCILHON, 1972) :

— élargissement spontané ou provoqué de la variabilité, concernant soit le matériel héréditaire (mutants) soit son mode de fonctionnement (variants),

— obtention de plantes saines débarrassées de viroses,

— dissociation et éventuellement création de chimères en liaison avec l'étude de divers problèmes morphologiques et physiologiques.

Toutes les tentatives infructueuses d'obtention de bourgeons néoformés ont été réalisées à partir de fragments prélevés sur des plantes ayant atteint la phase « adulte » d'un développement normal.

C'est pourquoi, nous avons tenté de résoudre le problème à partir de matériel cultivé *in vitro*. En effet, les plantes cultivées dans ces conditions sur un milieu minimum présentent et conservent des caractéristiques de la première phase de développement dans les domaines de la morphologie (phyllotaxie, absence de vrille) et surtout de la physiologie où on enregistre une exaltation des capacités d'organogenèse radicale.

En outre, l'état aseptique de ces plantes accroît et facilite les possibilités de manipulation en permettant la mise en culture, sans lésion, d'organes ou de fragments d'organes comme les feuilles.

Suite à une première communication (FAVRE, 1976), nous exposerons, ici, les principaux résultats obtenus avec ce type de matériel végétal dans la recherche de néoformations caulinaires.

## I. — Comportement d'implants primaires appartenant à un clone d'hybride : *Vitis riparia* × *Vitis rupestris*

### 1. — *Comportement de fragments d'entre-nœuds sur différents milieux de culture*

a) *Composition des milieux*

Trois milieux ont été retenus. Le premier, noté G.E., dérivée du milieu de GAMBORG et EVELEIGH (1968). Les deux autres, $PR_1$ et $P_7$, se composent des macro-

éléments de MURASHIGE et SKOOG (1962), des micro-éléments de HELLER (1953) et de la solution vitaminique de MOREL (1948). Ils diffèrent au niveau du fer qui est apporté sous forme de chlorure ferrique ($Fe Cl_3$) dans $PR_1$ et sous forme chelatée (Fe EDTA) dans $P_7$.

Chacun des trois milieux possède en outre une composition particulière en régulateurs de croissance indiquée dans le tableau I, ainsi que 20 g/l de saccharose.

Ils sont solidifiés par 8 g/l de bacto-agar.

TABLEAU I

| | $PR_1$ | $P_7$ | G.E. |
|---|---|---|---|
| Macro-éléments | MURASHIGE ET SKOOG | MURASHIGE ET SKOOG | GAMBORG et EVELEIGH |
| Micro-éléments | HELLER | HELLER | GAMBORG et EVELEIGH |
| Fer | $FeCl_3$ $10^{-6}$ | Fe EDTA $0{,}5.10^{-4}$ | Fe EDTA $0{,}5.10^{-4}$ |
| Vitamines | MOREL | MOREL | GAMBORG et EVELEIGH |
| Sucre | Saccharose 20 g/l | Saccharose 20 g/l | Saccharose 20 g/l |
| Régulateurs de croissance | ANA $10^{-6}$<br>BA $2.10^{-7}$ | AIB $10^{-6}$<br>BA $5.10^{-7}$ | ANA $10^{-7}$<br>Kin $2.10^{-7}$ |
| PH | 5,8 | 5,8 | 5,8 |

(ANA : acide naphtalène acétique; AIB : acide indol-butyrique; BA : benzyl-adénine; Kin: kinétine).

b) *Expérience*

Sur chacun des trois milieux, on dépose 120 fragments d'entre-nœuds de 5 mm de longueur. Ceux-ci sont prélevés sur des plantes appartenant à un clone d'hybride *Vitis riparia* × *Vitis rupestris* (3309 COUDERC), cultivées *in vitro* depuis 4 mois sur un milieu simple dépourvu de régulateurs de croissance composé des macro-éléments de KNOP dilués au demi(*), des micro-éléments de BERTHELOT (1934) et de 15 g/l de saccharose. Le Ph est ajusté à 6,5.

Comme les plantes dont ils proviennent, les fragments sont conservés dans une enceinte réglée à 29 °C et ils reçoivent 12 heures de lumière (6 000 lux. Tubes blancs fluorescents).

c) *Résultats*

Sur le milieu $PR_1$ on observe au bout de 9 jours le début d'une production de cals. Celle-ci se généralise rapidement, atteint 70 p. 100 des implants au bout d'un mois de culture et culmine à 80 p. 100. Aucune organogenèse n'est obtenue.

(*) Pour 1 litre d'eau bidistillée : nitrate de calcium 0,5 g, nitrate de potassium 0,125 g, sulfate de magnésium 0,125 g, phosphate monopotassique 0,125g.

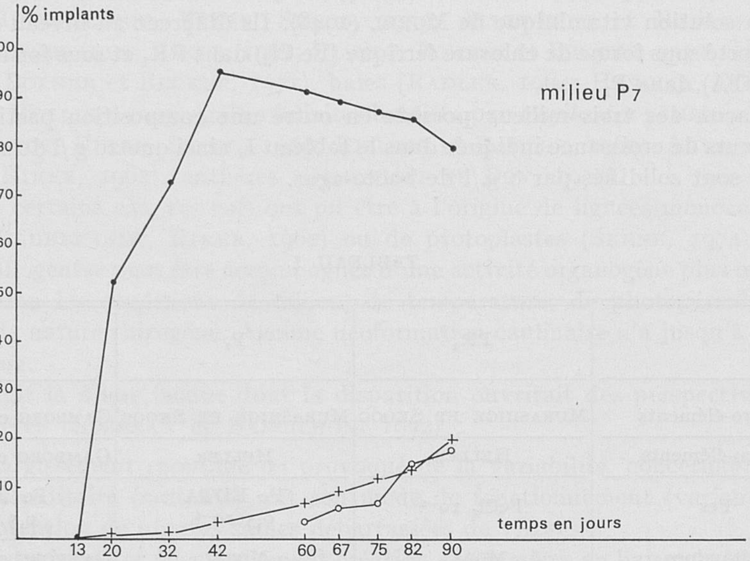



FIG. 1. — *Évolution en fonction du temps de l'activité sur milieu $P_7$ de fragments d'entre-nœuds de 5 mm de longueur provenant de plantes multipliées* in vitro

●——● implants exclusivement callogènes
+——+ implants à la fois callogènes et rhizogènes
o——o implants caulogènes

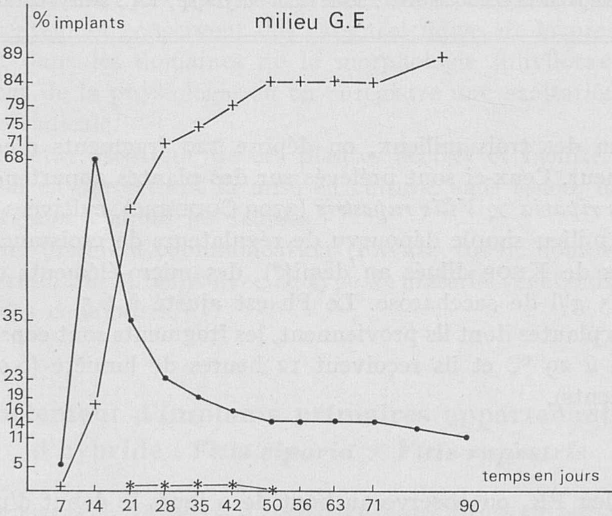



FIG. 2. — *Évolution en fonction du temps de l'activité sur milieu G.E. de fragments d'entre-nœuds de 5 mm de longueur provenant de plantes multipliées* in vitro

●——● implants exclusivement callogènes
*——* implants exclusivement rhizogènes
+——+ implants à la fois callogènes et rhizogènes

En ce qui concerne les milieux $P_7$ et G.E. on enregistre d'abord un comportement comparable. Une callogenèse apparaît qui concerne environ 50 p. 100 des implants au bout de 20 jours.

En même temps cependant, des phénomènes nouveaux apparaissent. Sur G.E. la callogenèse s'accompagne rapidement d'une production de racines qui affecte en un mois la plupart des boutures (fig. 2).

La rhizogenèse est moins importante sur $P_7$, où, par contre après environ deux mois de culture on voit naître des petits organes blancs qui se révèlent être des organes caulinaires néoformés (fig. 1).

Ils sont assez nombreux sur un même implant, leur nombre atteignant en moyenne la dizaine. Trois mois après le début de l'expérience 20 p. 100 des fragments en possèdent.

Si la callogenèse se produit sur chacun des trois milieux utilisés, une organogenèse n'est obtenue que sur les milieux G.E. et $P_7$, seul ce dernier permettant la caulogenèse.

C'est donc lui qui a été retenu pour la suite de l'expérimentation.

### 2. — *Comportement de différents types d'implants sur le milieu $P_7$*

Après ces essais de milieu réalisés en utilisant des fragments d'entre-nœuds, nous avons testé d'autres types d'implants.

a) *Racines*

144 fragments de racines d'environ 5 mm de longueur sont placés sur $P_7$ :

13 jours après la mise en culture, ils commencent à se dilater et à éclater sous l'effet d'une callogenèse qui va en se développant, plus lentement toutefois que sur les portions d'entre-nœuds (fig. 3).

Après un mois environ, on note en plus la présence de racines sur un certain nombre d'implants. Dans aucun cas la naissance d'organes caulinaires n'est obtenue.

b) *Pétioles et limbes foliaires*

Toujours sur milieu $P_7$, on dépose 120 fragments de pétioles longs de 5 mm, et 160 limbes isolés.

A partir de ces deux types d'implants, quatre réactions peuvent être observées :

— apparition de racines adventives,

— callogenèse,

— callogenèse et rhizogenèse,

— apparition d'organes caulinaires sur des implants portant des racines ou n'en portant pas.

Les figures 4 et 5 montrent l'importance de chacune d'elles pour les deux types d'implants.

On observe que la callogenèse touche un plus grand nombre d'implants dans le lot de pétioles que dans celui de limbes. Par contre, les phénomènes d'organogenèse sont beaucoup plus importants à partir des limbes, en particulier la néoformation d'organes caulinaires qui débute 30 ou 40 jours après la mise en culture et concerne finalement plus de 70 p. 100 d'entre eux.

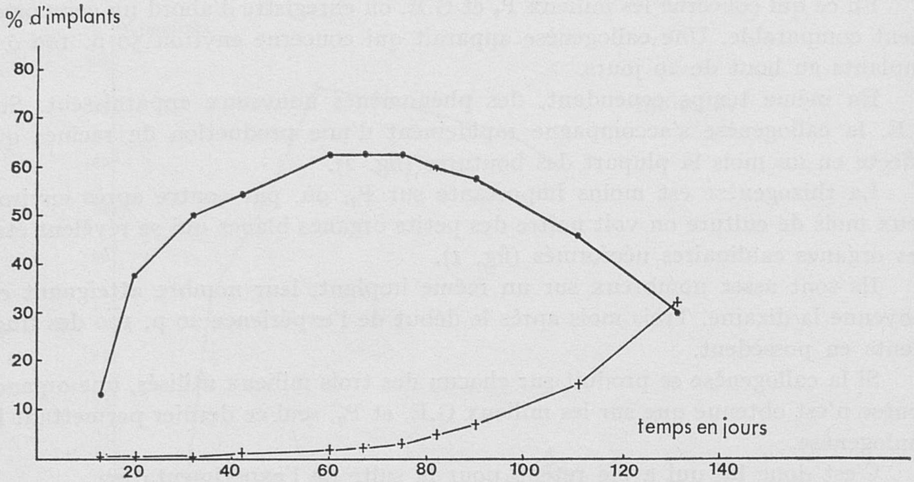



FIG. 3. — *Évolution en fonction du temps de l'activité sur milieu $P_7$ de fragments de racines de 5 mm de longueur provenant de plantes multipliées* in vitro

●———● implants exclusivement rhizogènes
+———+ implants à la fois callogènes et rhizogènes

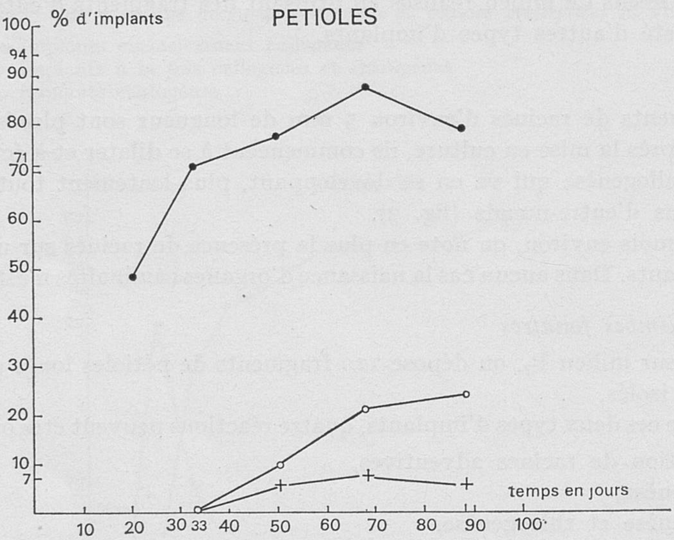



FIG. 4. — *Évolution en fonction du temps de l'activité sur milieu $P_7$ de fragments de pétioles de 5 mm de longueur provenant de plantes multipliées* in vitro

●———● implants exclusivement callogènes
+———+ implants à la fois callogènes et rhizogènes
o———o implants caulogènes

Comme c'est le cas pour les fragments d'entre-nœuds, chaque limbe peut porter jusqu'à une dizaine d'éléments caulinaires néoformés.

Ainsi les pétioles et surtout les limbes se révèlent être nettement plus caulogènes que les fragments de tige.

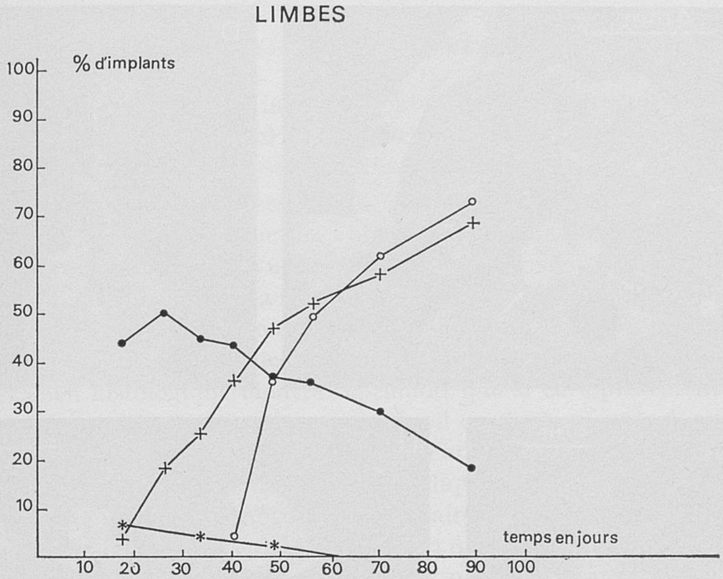



Fig. 5. — *Évolution en fonction du temps de l'activité sur milieu $P_7$ de limbes provenant de plantes multipliées* in vitro

●———● implants exclusivement callogènes
*———* implants exclusivement rhizogènes
+———+ implants à la fois callogènes et rhizogènes
o———o implants callogènes

Nous avons donc poursuivi l'expérimentation avec des limbes cultivés sur milieu $P_7$.

c) *Limbes prélevés à différents niveaux de la plante*

Sur des plantes cultivées *in vitro*, aussi homogènes que possible, nous avons prélevé les limbes en séparant ceux qui proviennent de la partie apicale, de la partie médiane et de la partie basale de la plante.

L'examen des résultats montre quelques différences de comportement en ce qui concerne la callogenèse — les limbes provenant de la base prolifèrent un peu moins que les autres — et la rhizogenèse qui est légèrement plus faible sur les limbes provenant de la partie apicale de la plante.

Par contre, en ce qui concerne la caulogenèse les différences enregistrées ne sont pas significatives.

Le niveau d'insertion de la feuille sur la plante cultivée *in vitro* ne modifie donc pas sensiblement l'aptitude à la caulogenèse des limbes. Les différents stades de développement atteints *in vitro* par ces organes sont donc de ce point de vue équivalents.

Il ne nous est donc pas apparu nécessaire de distinguer différentes catégories de limbes dans la suite du travail.

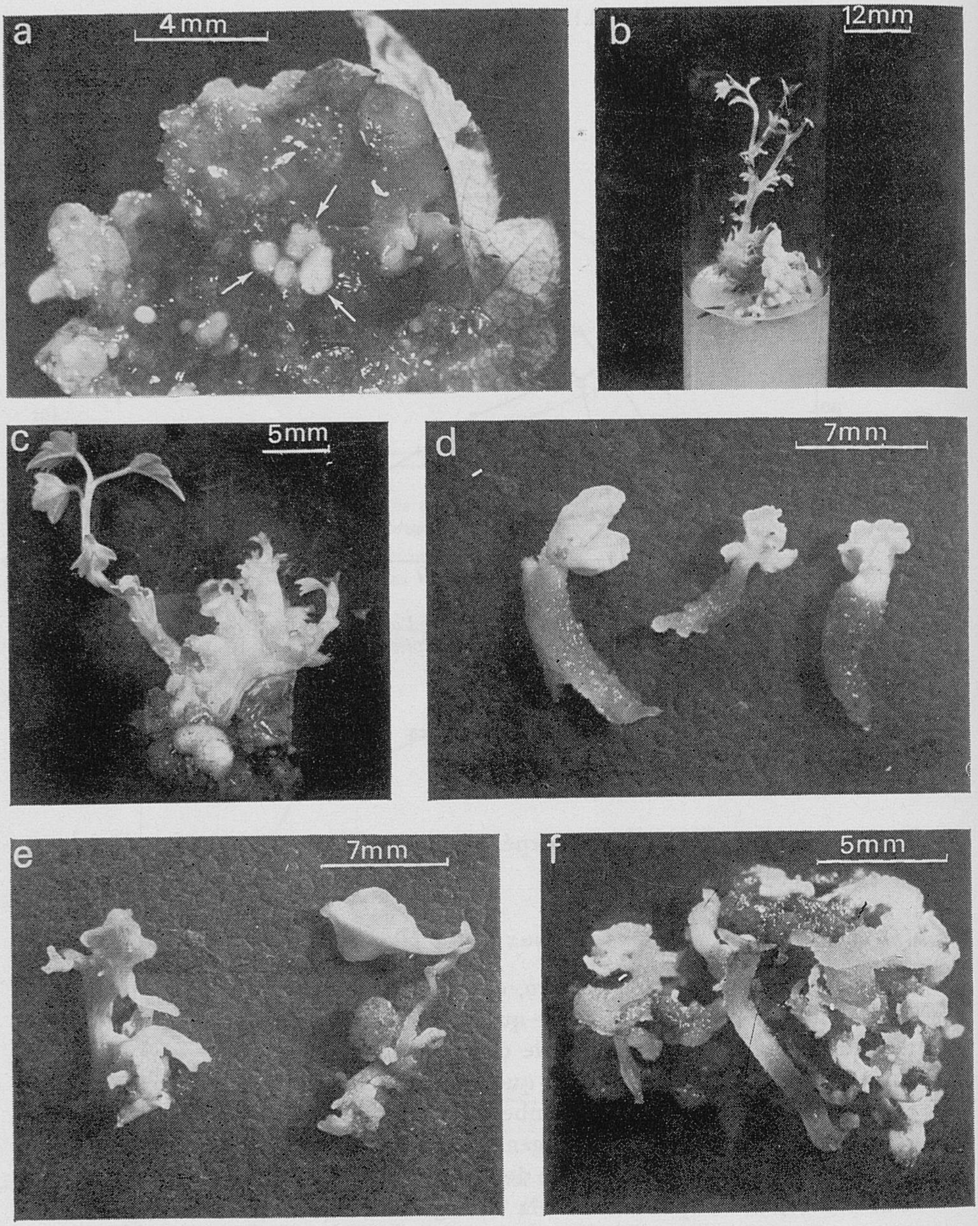



PLANCHE I. — *Description des néoformations caulinaires*

*a*) Apparition de petits organes blancs sur le limbe foliaire.
*b*) Plante feuillée chlorophyllienne néoformée.
*c*) Même chose que *b* à un plus fort grossissement.
*d*) Productions caulinaires « bipolaires ».
*e*) Productions caulinaires « bipolaires » à caractère tératologique.
*f*) Amas de structures caulinaires « bipolaires » recouvrant l'implant initial après 4 mois de culture.

### 3. — *Description des néoformations caulinaires*

Comme nous l'avons déjà indiqué, l'obtention de néoformations caulinaires se manifeste d'abord par l'apparition de petits organes blancs (Planche 1*a*). En évoluant, ceux-ci donnent naissance à deux types de productions :

— D'une part, des productions qui, mis à part quelques cas tératologiques (Planche I*e*), présentent une structure « bipolaire » avec un pôle « apical » possédant des pièces plus ou moins aplaties non chlorophylliennes, comparables à des éléments foliaires, et un pôle « basal » (Planche I*d*).

Ces productions qui sont nombreuses (environ 90 p. 100 des implants en sont pourvues) rappellent les plantules contenues dans les graines.

Un examen histologique montre cependant que si elles présentent une organisation tissulaire, avec notamment un appareil conducteur central, aucun méristème radical ou caulinaire individualisé ne peut être reconnu.

Après deux ou trois mois de culture, la plupart d'entre elles s'allongent sans donner de développement organogène, ni caulinaire, ni radical, et tendent à se détacher de l'implant qui se trouve alors recouvert d'un amas enchevêtré (Planche I*f*).

— D'autre part, dans quelques cas (1 à 2 p. 100 des implants) de véritables bourgeons donnant naissance à des axes chlorophylliens feuillés, souvent ramifiés, et qui, hormis des modifications de la morphologie foliaire liées à la composition du milieu de culture, présentent les mêmes caractéristiques morphologiques de jeunesse que les plantes multipliées *in vitro* dont elles dérivent (Planche I*b* et I*c*).

Ces deux types de production ne sont pas exclusifs l'un de l'autre. On peut les trouver ensemble sur un même implant.

### 4. — *Tentatives d'amélioration de la production d'axes feuillés chlorophylliens*

Si les résultats exposés jusqu'à présent sont satisfaisants dans la mesure où le nombre des néoformations caulinaires obtenues est relativement élevé, ils n'en restent pas moins insuffisants dans la mesure ou parmi celles-ci les axes feuillés chlorophylliens sont très minoritaires.

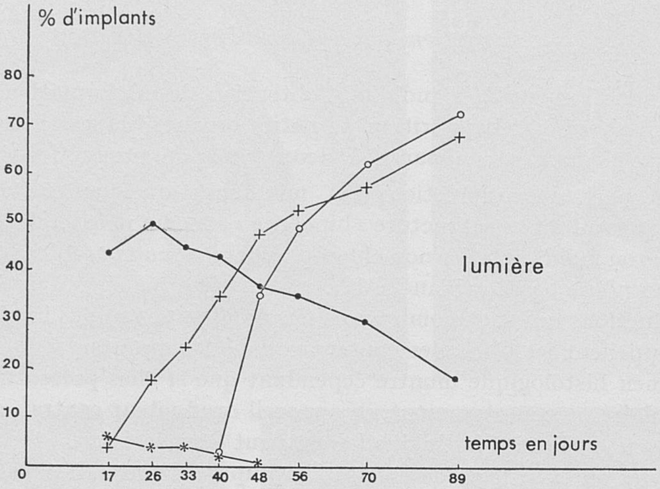
Nous avons donc essayé d'en augmenter le nombre en modifiant les conditions de culture au niveau de facteurs physiques d'une part, et de facteurs chimiques d'autre part.

a) *Facteurs physiques*

— *Lumière*

Deux lots comparables de 120 limbes cultivés sur milieu $P_7$ à la température de 29 °C sont placés l'un à la lumière (photopériode de 12 heures), l'autre à l'obscurité.

La figure 6 montre les résultats obtenus. En ce qui concerne la callogenèse et la rhizogenèse, les comportements des implants exposés à la lumière ou non sont très voisins.



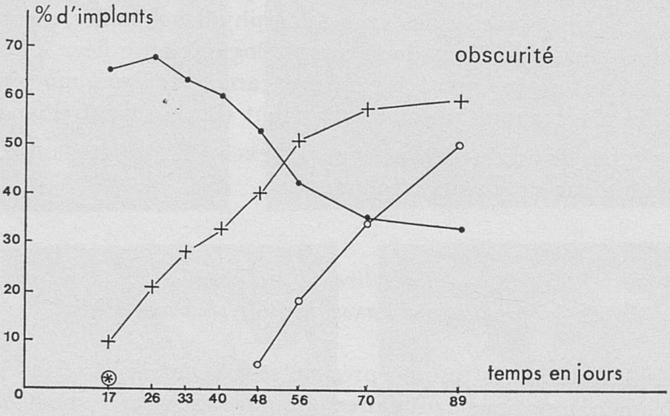




FIG. 6. — *Évolution en fonction du temps de l'activité de limbes provenant de plantes multipliées* in vitro, *et cultivés soit à la lumière* (12 h de jour) *soit à l'obscurité totale*

●——● implants exclusivement callogènes
*——* implants exclusivement rhizogènes
o——o implants caulogènes
+——+ implants à la fois callogènes et rhizogènes

Par contre, en ce qui concerne la caulogenèse, les comportements des deux lots sont assez sensiblement différents. Les limbes placés à l'obscurité régénèrent plus lentement et en moins grand nombre. De plus, seules des « productions bipolaires » sont obtenues.

L'influence de la lumière sur le comportement caulogène des limbes est donc importante, celle-ci constituant un élément favorable à la production d'éléments « bipolaires » et un facteur nécessaire à l'obtention d'axes feuillés chlorophylliens.

— *Température*

Étant la plus favorable au développement des plants de Vigne cultivées *in vitro*, la température de 29 °C a été au départ retenue pour la recherche de néoformations caulinaires.

Par la suite, dans l'espoir d'augmenter le nombre d'axes feuillés chlorophylliens obtenus, nous avons cherché à tester d'autres températures. Les résultats se sont avérés très décevants.

En effet, aux températures supérieures à 29 °C, par exemple à 32 °C ou 34 °C, la survie des implants ne dépasse pas quelques jours au terme desquels ils se dessèchent et meurent. Aucune expérience ne peut donc être menée à ces températures.

A 20 °C ou 25 °C, par contre, les limbes survivent. Mais ils demeurent inertes. Après deux mois de culture, ils commencent à mourir et un mois plus tard la quasi-totalité des implants sont morts sans avoir rien produit.

Ainsi, les conditions de température permettant la culture *in vitro* des limbes sont strictement limitées, et tout écart par rapport à l'optimum de 29 °C aboutit à un échec.

b) *Facteurs chimiques*

Au niveau des facteurs chimiques, nous nous sommes intéressés essentiellement aux régulateurs de croissance, en faisant varier la concentration en benzyladénine (BA) puis la nature et les concentrations de substances d'activité auxi-

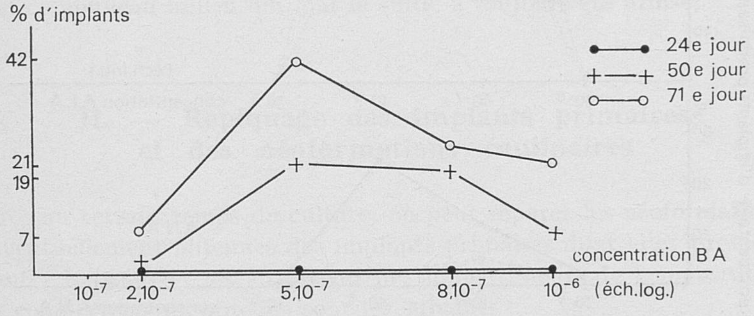



FIG. 7. — *Influence de la concentration en benzyl-adénine* (BA) *sur l'activité de caulogenèse de limbes prélevés sur des plantes multipliées* in vitro

nique : acide indol acétique (AIA), acide indol butyrique (AIB), acide naphtalène acétique (ANA) et acide dichlorophénoxyacétique (2-4 D).

Les résultats obtenus montrent que le comportement général des implants, et en particulier leur aptitude à néoformer des organes caulinaires varie en fonction de la nature et de la concentration des régulateurs de croissance utilisés :

— *Culture de limbes sur des milieux $P_7$ contenant diverses concentrations de BA.*

Cinq lots de 120 limbes sont placés sur des milieux à base $P_7$ contenant des concentrations de BA différentes : $10^{-7}$, $2.10^{-7}$, $5.10^{-7}$, $8.10^{-7}$, $10^{-6}$ avec $10^{-6}$ d'AIB.

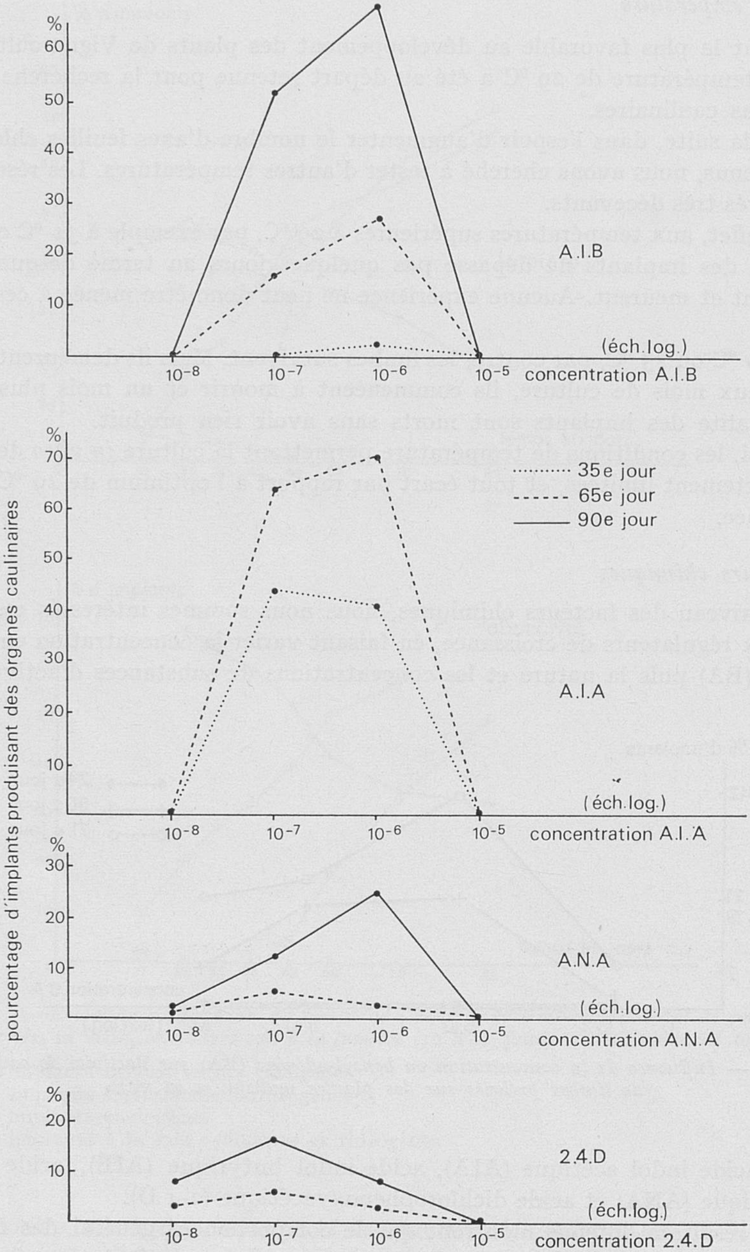



FIG. 8. — *Influence de la nature et de la concentration de diverses substances auxiniques sur l'activité de caulogenèse de limbes prélevés sur des plantes multipliées* in vitro.
(AIB : acide indol-butyrique; AIA : acide indol-acétique; ANA : acide naphtalène-acétique; 2.4.D : acide 2.4 dichlorophénoxy-acétique).

Le pourcentage d'implants portant des néoformations caulinaires est noté 24, 50 et 71 jours après la mise en culture.

L'examen de la figure 7 confirme que c'est la concentration en BA utilisée jusqu'alors ($5.10^{-7}$) qui permet l'obtention d'une callogenèse sur le plus grand nombre d'implants.

— *Culture de limbes sur des milieux $P_7$ contenant de l'AIB, de l'AIA, de l'ANA ou du 2.4.D à des concentrations différentes.*

Dans les expériences suivantes, à partir du milieu de base $P_7$, la concentration de BA est fixée à $5.10^{-7}$ et on ajoute différentes substances d'activité auxinique à des concentrations variant entre $10^{-5}$ et $10^{-6}$.

La proportion des 170 limbes constituant chacun des lots qui produisent des néoformations caulinaires est relevée 35, 65 et 90 jours après la mise en culture (fig. 8).

On constate en comparant les résultats obtenus, que les diverses substances utilisées ont des efficacités très différentes, l'AIA permettant une caulogenèse plus rapide et plus massive que l'AIB et surtout que l'ANA ou le 2.4.D.

Mais quelle que soit l'auxine testée et la concentration utilisée, la proportion de bourgeons donnant naissance à des axes feuillés chlorophylliens reste au mieux égale à 1 ou 2 p. 100 des implants mis en expérience.

Aucune des conditions de culture réalisées n'a permis de dépasser ces chiffres.

Cependant, la supériorité constatée de l'AIA en matière de caulogenèse, nous a conduit à modifier légèrement le milieu de culture habituellement utilisé en remplaçant l'AIB par l'AIA à la même concentration de $10^{-6}$.

C'est ce nouveau milieu qui, par la suite, a toujours été utilisé.

## II. — Repiquage des implants primaires et des néoformations caulinaires

Après un certain temps de culture, on peut séparer les néoformations caulinaires éventuellement obtenues des implants primaires dont elles proviennent et transplanter les unes et les autres sur des milieux neufs de composition variée

Les comportements obtenus sont les suivants :

### 1. — *Transplantation des implants primaires*

Le repiquage de tout ou partie d'implants primaires n'est suivi d'aucune nouvelle production d'organes caulinaires ou radicaux, y compris lorsqu'il s'agit d'implants ou de fragments d'implants ayant manifesté auparavant une forte activité organogène.

Ce phénomène est indépendant du milieu sur lequel la transplantation est effectuée. Il se manifeste aussi bien sur des milieux $P_7$ complets ou simplifiés que sur le milieu à base de KNOP habituellement utilisé pour la multiplication *in vitro* de la Vigne.

Seule, si le milieu est adéquat, la callogenèse peut se poursuivre. Les cals ainsi obtenus peuvent être multipliés sans difficulté sur différents milieux, $P_7$ par exemple.

Jusqu'à présent, aucune réacquisition d'activité organogène, rhizogène ou caulogène, n'a été observée, que les cals soient multipliés à un rythme élevé ou à un rythme lent.

Tout se passe donc comme si la capacité d'organogenèse était essentiellement une propriété acquise au départ au sein de la plante entière, par l'implant lui-même, révélée au moyen de conditions de culture déterminées, mais se perdant après la mise en culture, au fur et à mesure que son fonctionnement se transforme.

## 2. — *Axes feuillés chlorophylliens*

Le repiquage des axes feuillés chlorophylliens néoformés sur le milieu à base de KNOP habituellement utilisé pour la multiplication *in vitro* de la Vigne échoue.

Dans le meilleur des cas, les boutures issues de ces axes, étalent une ou deux feuilles, produisent quelques racines, mais rapidement croissance et organogenèse cessent. Deux à trois semaines après leur transplantation elles meurent.

La survie est un peu plus longue lorsque la transplantation est faite sur un milieu plus riche, par exemple un $P_7$ dépourvu de régulateurs de croissance, mais le développement obtenu reste également limité.

Pour obtenir un développement satisfaisant à partir des axes feuillés chlorophylliens néoformés, il est nécessaire d'opérer la transplantation sur un milieu contenant de l'AIA. Après divers essais, nous utilisons actuellement le milieu habituel de multiplication *in vitro* de la Vigne enrichi par l'adjonction des vitamines de MOREL et d'AIA à la concentration de $10^{-8}$.

*Sur ce milieu, les boutures provenant des axes feuillés néoformés donnent naissance à des plantes vigoureuses* qui peuvent être ensuite normalement multipliées sur le milieu habituel sans vitamines ni AIA.

La nécessité transitoire d'une auxine rapproche le comportement des plantes néoformées *in vitro* de celui des apex isolés de *Vitis rupestris* dont la culture exige dans un premier temps l'apport d'ANA (GALZY, 1972).

Peut-être, dans un cas comme dans l'autre, cette substance permet-elle à des méristèmes dont l'organisation et le fonctionnement sont fortement perturbés de se maintenir en attendant que leur propre évolution aboutisse à l'établissement des corrélations nécessaires et suffisantes à un développement stable et autonome.

## 3. — *Productions caulinaires bipolaires*

Qu'elles soient maintenues sur $P_7$ normal, ou sur un $P_7$ appauvri notamment en régulateurs de croissance et en saccharose, les productions caulinaires bipolaires ont toujours un devenir très limité. Elles s'allongent, les lames foliacées s'étalent, restent généralement albinos, quelques racines se développent. Mais aucun axe feuillé et chlorophyllien ne se développe (Planche II*a*).

Contrairement aux axes feuillés chlorophylliens néoformés, cette absence

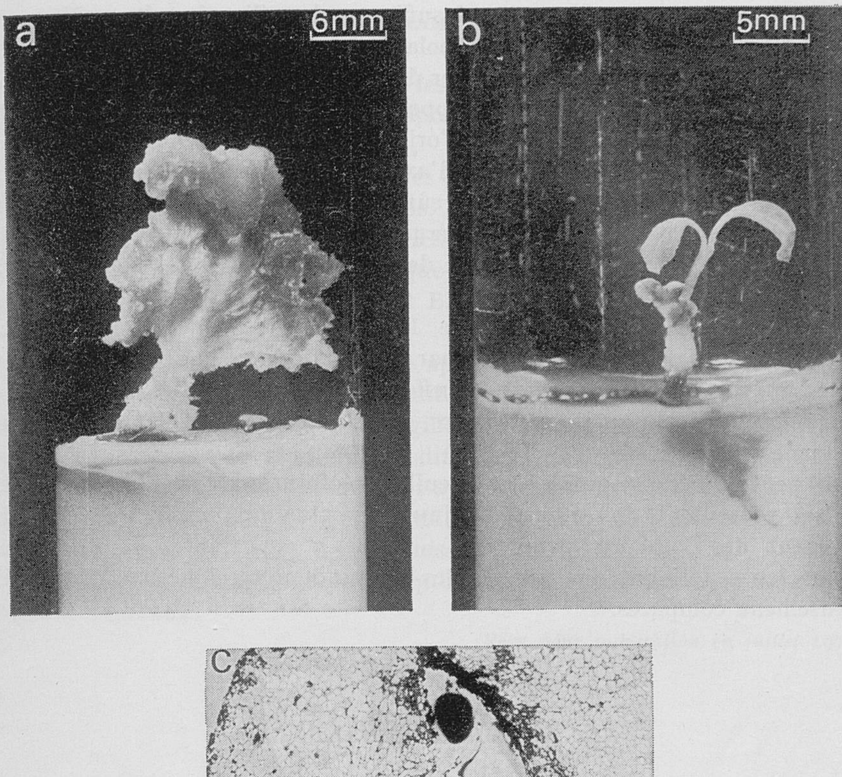



PLANCHE II. — *Repiquage des productions « bipolaires » néoformées*

*a*) Production caulinaire " bipolaire " à devenir limité.
*b*) Premières feuilles d'une plante chlorophyllienne néoformée après repiquage d'une production caulinaire « bipolaire ».
*c*) Image histologique d'un méristème caulinaire néoformé à partir d'une production « bipolaire ».

de développement n'est pas due à une insuffisance du milieu de culture. Nous avons vu, en effet, que les « productions bipolaires » ne possèdent pas de méristèmes organisés. Elles ne peuvent donc donner directement naissance à des axes feuillés ou radicaux. Les limites de leur développement sont inscrites dans leur structure.

Par contre, elles peuvent être à l'origine de nouvelles néoformations caulinaires qui se présentent sous la forme d'axes feuillés chlorophylliens à développement normal. Ce phénomène est, bien sûr, fonction du milieu de culture utilisé, la meilleure formule ayant été jusqu'à présent le repiquage des « productions bipolaires » sur un milieu $P_7$ dépourvu de BA et ne contenant que $10^{-8}$ d'AIA (Planche II*c*).

D'un point de vue morphologique, les axes feuillés obtenus présentent par rapport à ceux produits directement par les implants primaires quelques particularités intéressantes. On observe, en effet, que les premières feuilles qu'ils portent sont fréquemment entières et ovales, c'est-à-dire comparables aux cotylédons de la vigne (Planche II*b*).

On peut en déduire que les axes feuillés néoformés à partir des productions bipolaires présentent des caractères juvéniles plus prononcés que ceux issus directement des implants primaires.

Les clones dérivant des uns ou des autres devront donc être distingués et soigneusement comparés.

## Discussion

Nous avons, au cours des expériences que nous venons de relater, enregistré un certain nombre de résultats dont le principal est l'obtention, pour la première fois chez la Vigne, de néoformations caulinaires. Certaines d'entre-elles sont susceptibles d'être à l'origine de clones qui peuvent être multipliés *in vitro* et transplantés ensuite sans difficulté dans les conditions naturelles de culture.

Ce premier succès a ses limites et des questions importantes restent à résoudre, comme l'augmentation du rendement en productions caulinaires, en particulier en axes feuillés chlorophylliens, et l'élargissement du nombre de génotypes répondant positivement.

Une première expérimentation a d'ailleurs été réalisée sur ce dernier point et des néoformations caulinaires ont pu être obtenues sur un clone appartenant au groupe des *V. vinifera* = « Prodigiosa » (« Bicane » × « Poète Matabon »). Pour d'autres cépages (« Carignan gris », « Muscat d'Alexandrie », « Cinsaut ») il ne nous a pas encore été possible d'obtenir des néoformations caulinaires à partir des cultures *in vitro* que nous avons réalisées.

D'un point de vue général, ces résultats sont, pour une large part, le fruit de l'exploitation des propriétés physiologiques particulières des plantes cultivées *in vitro*, en particulier de leur caractère juvénile. Ils confirment les succès déjà obtenus dans le domaine de la multiplication végétative à partir de plantes ou d'organes rajeunis par la culture *in vitro*, parmi lesquels la multiplication des orchidées (MOREL, 1963, 1964, 1972; CHAMPAGNAT, MOREL, CHABUT, COGNET,

1966) où celle des *Citrus* (BOUZID, LASRAM, 1971) sont les exemples sans doute les plus marquants.

De plus, ils attirent l'attention sur les capacités d'organogenèse d'une portion de plante souvent négligée sous ce rapport : la feuille et en particulier le limbe foliaire.

L'existence de capacités organogènes « naturelles » chez les feuilles de certains végétaux est reconnue depuis longtemps. Plusieurs auteurs en ont fait des recensements très complets (GOEBEL, 1908; HAGEMAN, 1931; SCHWARZ, 1933). Le cas des *Begonia* ou celui des *Peperomia* que plusieurs auteurs ont étudié de façon détaillée (BIGOT, 1966, 1971; BIGOT et BRULFERT, 1968) par exemple, est bien connu.

Cependant, lorsqu'il s'agit de faire apparaître des propriétés organogènes ne s'exprimant naturellement pas, les feuilles sont assez rarement utilisées. Ceci tient sans doute pour une part à la fragilité de ces organes qui rend leur manipulation, en particulier leur stérilisation, difficile et délicate.

L'utilisation de plantes appartenant à des clones cultivés *in vitro* qui dérivent d'une graine ou d'un bourgeon permet de tourner cette difficulté technique et de bénéficier en outre de l'effet de rajeunissement.

C'est donc sans doute une solution qu'il peut être utile d'envisager d'appliquer à d'autres végétaux.

*Reçu pour publication en juillet* 1976.

## Remerciements

Nous exprimons nos plus vifs remerciements à M^me^ AMBROISE dont l'apport à la réalisation de ce travail a été en plusieurs occasions, décisif.

## Summary

*Fist results on* in vitro *production of bud-neoformations in Grape vine*

The use of leaf-blades coming from *in vitro* cultured plants enables in several vine plants, the production of bud-neoformations which may give rise to clones.

## Références bibliographiques

ALLEWELDT G. et RADLER F., 1961. Das Wachstum der Gewebekulturen photoperiodisch vorbehandelten Rebenpflanzen. *Naturwissenschaft*, **48**, 109.

ARYA H. C., HILDEBRANDT A. C., RIKER A. J., 1962. Growth in tissue culture of single cell clones from grape stem and *Phylloxera* gall. *Plant. Physiol.*, **37**, 387-392.

BERTHELOT A., 1934. Nouvelles remarques d'ordre chimique sur le choix des milieux de culture naturels et sur la manière de formuler les milieux synthétiques. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **16**, 1553-1557.

BIGOT Cl., 1966. Néoformation de bourgeons et de racines sur des feuilles immatures. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, **113**, 429-434.

BIGOT Cl., 1972. Contrôle multiple de l'expression de l'aptitude à la néoformation de bour. geons épiphylles chez un clone de *Begonia Rex*. *Soc. bot. fr. Mém.* (Coll. Morphologie), 173-190.

BIGOT Cl. et BRULFERT J., 1968. Dynamique de l'apparition naturelle des néoformations de racines et de bourgeons à partir de feuilles isolées de *Peperomia griseo-argentea*. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **267**, 1786-1588.

BOUZID S. et LASRAM M., 1971. Utilisation de cultures *in vitro* pour l'obtention de clones de *Citrus* homogènes et de bon état sanitaire. 8e *Cong. Inter. Agrum. méditer.* (Madrid), **2**, 1-6.

CHAMPAGNAT M., MOREL G., CHABUT P., COGNET A. M., 1966. Recherches morphologiques et histologiques sur la multiplication végétative de quelques Orchidées du genre *Cymbidium*. *Rev. gén. Bot.*, **73**, 706-746.

FALLOT J., 1954. Cultures aseptiques de tiges de Vigne prélevées juste avant et pendant le repos hivernal. *Bull. Soc. Hist. nat. Toulouse*, **90**, 173-181.

FAVRE J. M., 1976. Influence de l'état physiologique de la plante et de la nature de l'organe prélevé sur l'obtention de néoformations caulinaires de Vigne. **101**e *Congrès nat. Soc. savantes Lille.*

GALZY R., 1961. Confirmation de la nature virale du Court-noué de la Vigne par des essais de thermothérapie sur des cultures *in vitro*. *C. R. Acad. Sci.*, **253**, 706-708.

GALZY R., 1964. Technique de thermothérapie des viroses de la Vigne. *Ann. Epiphyties*, **15**, 245-256.

GALZY R., 1966. Action de la température 35° sur *Vitis rupestris* atteint de Court-noué. *Bull. Soc. fr. Physiol. vég.*, **12**, 392-399.

GALZY R., 1969*a*. Remarques sur la croissance de *Vitis rupestris* cultivée *in vitro* sur différents milieux nutritifs. *Vitis*, **8**, 191-205.

GALZY R., 1969*b*. Recherches sur la croissance de *Vitis rupestris* sain et court-noué cultivé *in vitro* à différentes températures. *Ann. Phytopathol.*, **1**, 149-166.

GALZY R., 1972. La culture *in vitro* des apex de *Vitis rupestris*. *C. R. Acad. Sci.*, **274**, 210-213.

GAMBORG O. L., EVELEIGH D. E., 1968. Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of Wheat and Barley. *Can. J. Biochem.*, **46**, 417-421.

GOEBEL K., 1908. *Einleitung in die experimentelle Morphologie der Pflanzen.* Teubner-Berlin, Leipzig, 260 p.

GRESSHOFF P. M. et DOY C. H., 1974. Derivation of a haploid cell line from *Vitis vinifera* and the importance of the stage of meiotic development of anthers for haploid culture of this and other genera. *Z. Pflanzenphysiol.*, **73**, 132-141.

HAGEMAN A., 1931. Untersuchungen an Blattstecklingen. *Gartenbauwissenschaft*, **6**, 69-195.

HAWKER J. S., DOWNTON W. J. S., WISKICH D., MULLINS M. G., 1973. Callus an cell culture from grape berries. *Hortscience*, **8** (5), 398-399.

HELLER R., 1953. Recherches sur la nutrition minérale des tissus végétaux cultivés *in vitro* *Ann. Sci. nat. Bot. Biol. vég.*, **14**, 1-223.

MOREL G., 1944. Sur le développement de tissus de Vigne cultivés *in vitro*. *C. R. Soc. Biol.*, **138**, 62.

MOREL G., 1944. Action de l'acide indole βacétique sur la croissance des tissus de Vigne. *C. R. Soc. Biol.*, **138**, 93.

MOREL G., 1948. Recherches sur la culture associée de parasites obligatoires et de tissus végétaux. *Ann. Epiphyties*, **14**, 123-234.

MOREL G., 1963. La culture *in vitro* du méristème apical de certaines Orchidées. *C. R. Acad. Sci.*, **256**, 4955-4957.

MOREL G., 1972. Morphogenesis of stem apical, meristem cultivated *in vitro*: application to clonal propagation. *Phytomorphology*, **22**, 265-277.

MUR G., VALAT C., BRANAS J., 1972. Élimination de la pigmentation anthocyanique tardive (enroulement) par thermothérapie. *Progrès agric. vitic.*., **1**, 4-7.

MURASHIGE T. et SKOOG F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, **15**, 473-497.

NOZERAN R. et BANCILHON L., 1972. Les cultures *in vitro* en tant que technique pour l'approche de problèmes posés par l'amélioration des plantes. *Ann. Amelior. Plantes*, **22**, 167-185.

PELET F. A., HILDEBRANDT C., RIKER A. J. et SKOOG F., 1959. Growth *in vitro* of tissues isolated from normal stems and insect galls. *Am. J. Bot.*, **47**, 186-195.

PENAS-IGLESIAS A. et AYUSO P., 1973. A new and occurate way of heat therapy of plants grown *in vitro* applied to the sanitary selection of spanish grape vine varieties. *Rev. Pat. veg.*, **9**, 172-174.

RADLER, 1964. Versuche zur Kultur isolierter Beeren der Rebe. *Vitis*, **4**, 365-367.

RILLING G. et RADLER F., 1960. Die Kontrollierbare Aufzucht der Reblaus auf gewebekulturen von Reben. *Naturwissenschaft*, **47**, 547-548.

SCHWARZ W., 1927. Die Strukturänderungen sprossloser Blattsteckling und ihre Ursachen. *Jahrb. Wiss. Bot.*, **78**, 92-155.

SKENE K. G. M., 1974. Culture of protoplast from grape vine pericarp callus. *Aust. J. Plant Physiol.*, **1**, 371-376.

STAUDT G., BORNER H. G., BECKER H., 1972. Untersuchungen uber die Kallusbildung von di- und tetraploiden Reben *in vitro*. *Vitis*, **11**, 1-9.

VALAT C., MUR G., 1976. Thermothérapie du Cardinal rouge. *Progrès agric. vitic.*, **6**, 200-202.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (2), 171-202.

# Remarques sur la modélisation et l'interprétation des dispositifs diallèles

G. LEFORT

*Laboratoire de Mathématiques appliquées de l'I.N.A.-P.G.*
*16, rue Claude-Bernard, 75231 Paris Cedex 05*

---

## Résumé

La première partie justifie la modélisation d'un dispositif diallèle dans le cas où les effets sont aléatoires. La deuxième partie présente l'analyse statistique de ce modèle et comprend en particulier l'étude de la corrélation entre les aptitudes générales et les effets réciproques généraux; les résultats obtenus sont utilisés pour discuter la puissance des tests et comparer des dispositifs expérimentaux simples.

---

## Remarques sur la modélisation et l'interprétation des dispositifs diallèles

Le modèle diallèle convient à de nombreuses situations expérimentales et, en particulier, a été systématiquement utilisé en génétique.

Les effets introduits sont fixes (certains) si la population étudiée se limite aux individus utilisés et l'intérêt se porte alors sur l'estimation de ces effets. Ces effets sont aléatoires si les individus utilisés constituent un échantillon de la population étudiée et l'intérêt se porte alors sur les variances et covariances de ces effets dans la population.

Dans le cas d'effets aléatoires (modèle II), l'étude des espérances de sommes de carrés convenablement choisies permet de définir des estimateurs sans biais des variances. Mais les liaisons entre effets exprimées par une covariance souvent intéressante ne sont pas étudiées ou même sont supposées ne pas exister sans que cette hypothèse soit discutée.

Cet article se propose donc :

— de reprendre la construction du modèle diallèle à effets aléatoires en utilisant les propriétés élémentaires de l'échantillonnage dans une population de taille finie N;

— de discuter dans le cas d'une population infinie, sous l'hypothèse de normalité, l'estimation des paramètres et la valeur des tests d'hypothèses.

Pour éclairer le sens de certains résultats, des interprétations « génétiques » ont été esquissées; mais sur chaque problème particulier, c'est au praticien de discuter le sens des paramètres du modèle et nous n'ignorons pas que ce que nous appelons génétique peut dans certains cas être considéré comme cytoplasmique.

## Première partie
## Modélisation d'un dispositif diallèle

### I. — *Modèle à effets fixes*

Les dispositifs diallèles sont des plans bifactoriels et nous désignerons par $\mu_{uv}$ l'espérance (la valeur moyenne) du résultat relatif au niveau $u$ du premier facteur et $v$ du second : toute observation est la somme de $\mu_{uv}$ et d'une aléatoire centrée (une « erreur »).

Mais les deux facteurs ont des sens particuliers :

*Exemple 1 :* N individus (ou N familles, ou N races) sont croisés entre eux et le croisement de l'individu $u$ utilisé comme femelle et de l'individu $v$ utilisé comme mâle est indexé par $u$, $v$.

*Exemple 2 :* N lignées sont cultivées, chaque parcelle recevant l'association de deux de ces lignées; le résultat (rendement par exemple) de la lignée $u$ en présence de la lignée $v$ est indexé par $u$, $v$.

Le niveau $u$ du premier facteur et le niveau $u$ du deuxième facteur sont associés à un même individu ou une même lignée; c'est ce qui fait l'originalité du diallèle.

Les combinaisons $(u, u)$ ont un sens particulier et leur analyse doit en général être séparée de celle des autres résultats. Dans la suite *nous limiterons donc l'étude aux* $N(N-1)$ *combinaisons* $(u, v)$ *où* $u \neq v$ (*diallèle sans diagonale*).

Les paramètres étudiés sont les espérances $\mu_{uv}$; mais pour faciliter l'interprétation des résultats, on utilise diverses décompositions toutes équivalentes mathématiquement en ce sens qu'un ensemble arbitraire de $N(N-1)$ réels $\mu_{uv}$ peut s'écrire sous les diverses formes indiquées; le choix entre ces décompositions est donc uniquement fonction du sens que le praticien attribue aux paramètres introduits.

1. — *Décomposition factorielle classique*

On peut poser :

$$\mu_{uv} = \mu + \alpha_u + \beta_v + \theta_{uv}$$

avec les conditions :

$$\sum_{u=1}^{N} \alpha_u = 0 \qquad \sum_{u=1}^{N} \beta_u = 0$$

$$\forall u, \sum_{v=1}^{N} \theta_{uv} = 0 \qquad \forall v, \sum_{u=1}^{N} \theta_{uv} = 0$$

Dans l'exemple 1 (croisement de la femelle $u$ et du mâle $v$), les coefficients $\alpha_u$ et $\beta_u$ sont les effets de l'individu $u$ pris comme femelle et comme mâle, $\theta_{uv}$ l'interaction classique. Dans l'exemple 2 (rendement de la lignée $u$ en présence de $v$), $\alpha_u$ est l'effet producteur et $\beta_u$ l'effet partenaire.

2. — *Décomposition spécifique*

Les combinaisons $(u, v)$ et $(v, u)$ correspondent à une même paire d'individus; il est donc intéressant de les comparer et de définir leur valeur moyenne; de même la comparaison des effets d'un individu en tant que femelle et que mâle est intéressante. Ces raisons justifient l'introduction des nouveaux paramètres :

$$s_{uv} = \frac{\theta_{uv} + \theta_{vu}}{2} \qquad r_{uv} = \frac{\theta_{uv} - \theta_{vu}}{2}$$

$$g_u = \frac{\alpha_u + \beta_u}{2} \qquad m_u = \frac{\alpha_u - \beta_u}{2}$$

et du modèle introduit par HAYMAN (1954)

$$\mu_{uv} = \mu + g_u + g_v + m_u - m_v + s_{uv} + r_{uv}$$

Les paramètres $g_u$ et $s_{uv}$ sont l'aptitude générale et l'aptitude spécifique, $m_u$ un effet réciproque général (ou moyen) et $r_{uv}$ un effet réciproque spécifique.

Ces paramètres satisfont à des conditions qui se déduisent de celles écrites pour les paramètres $\alpha_u$, $\beta_v$, $\theta_{uv}$ :

$$\forall\, u, \forall\, v, \qquad s_{uv} - s_{vu} = 0 \quad \text{et} \quad r_{uv} + r_{vu} = 0$$

$$\sum_{u=1}^{N} g_u = 0 \qquad \sum_{u=1}^{N} m_u = 0 \qquad \forall\, u, \sum_{\substack{v=1 \\ v \neq u}}^{N} s_{uv} = 0 \qquad \forall\, u, \sum_{\substack{a=1 \\ v \neq u}}^{N} r_{uv} = 0$$

3. — *Seconde forme de la décomposition spécifique*

En posant :

$$\check{r}_{uv} = r_{uv} + m_u - m_v$$

On obtient :

$$\mu_{uv} = \mu + g_u + g_v + s_{uv} + r_{uv}$$

Les conditions imposées aux paramètres sont alors :

$$\forall\, u, \forall v, \qquad s_{uv} - s_{vu} = 0 \quad \text{et} \quad \check{r}_{uv} + \check{r}_{vu} = 0$$

$$\sum_{u=1}^{N} g_u = 0 \qquad \forall\, u, \sum_{\substack{v=1 \\ v \neq u}}^{N} s_{uv} = 0$$

*Remarques :*

1) Nous avons vu comment on passait de la décomposition 1 à la décomposition 2 puis à la décomposition 3; les formules de passage inverse sont :

$$3 \to 2 \qquad m_u = \check{r}_{u.} \qquad r_{uv} = \check{r}_{uv} - \check{r}_{u.} + \check{r}_{v.}$$

$$2 \to 1 \qquad \alpha_u = g_u + m_u \qquad \beta_u = g_u - m_u \qquad \theta_{uv} = s_{uv} + r_{uv}$$

2) Les conditions écrites impliquent l'unicité des paramètres de chacune des décompositions si les $\mu_{uv}$ sont fixés; par exemple, on obtient pour la décomposition 2 :

$$N(N-1)\,\mu = \mu_{++}$$
$$2N(N-2)\,g_u = N(\mu_{u+} + \mu_{+u}) - 2\mu_{++}$$
$$2N\,m_u = \mu_{u+} - \mu_{+u}$$
$$2(N-1)(N-2)\,s_{uv} = (N-1)(N-2)(\mu_{uv} + \mu_{vu}) - (N-1)(\mu_{u+} + \mu_{+u} + \mu_{v+} + \mu_{+v}) + 2\mu_{++}$$
$$2N\,r_{uv} = N(\mu_{uv} - \mu_{vu}) - (\mu_{u+} - \mu_{+u}) + \mu_{v+} - \mu_{+v}$$

Les valeurs des autres paramètres ($\alpha_u$, $\beta_v$, $\theta_{uv}$ ou $\check{r}_{uv}$) s'en déduisent par les transformations indiquées.

## II. — *Modèle à effets aléatoires*

Comme pour le modèle à effets fixes, nous limiterons l'étude au seul cas où les combinaisons $(u, u)$ ne sont pas prises en compte.

Si l'effectif N de la population initiale $\mathcal{T}$ est grand, il est pratiquement impossible d'effectuer les $N(N-1)$ combinaisons $(u, v)$. On remplace donc la population $\mathcal{T}$ par un échantillon aléatoire $\xi$ de $n$ éléments distincts prélevés dans $\mathcal{T}$ et on étudie les $n(n-1)$ combinaisons relatives aux éléments de l'échantillon $\xi$.

Nous allons construire rapidement le modèle correspondant à cette pratique expérimentale, complétant ainsi le travail entrepris par GRIFFING (1958) dans le cas d'une population $\mathcal{T}$ infinie (les résultats établis par GRIFFING pour les aptitudes spécifiques ont été étendus sans justification et à tort aux effets réciproques).

Nous désignerons par $i, j, l$... les éléments de l'échantillon $\xi$ obtenus aux tirages $i, j, l$..., c'est-à-dire des éléments aléatoires de la population $\mathcal{T}$ : quel que soit $u$, la probabilité d'avoir $i = u$ est égale à $1/N$. L'espérance des observations relatives à la combinaison $(i, j)$ est donc une aléatoire $\Pi_{ij}$ et nous écrirons:

$$\Pi_{ij} = \sum_{u \neq v} X_{iu}\, X_{jv}\, \mu_{uv}$$

en introduisant les indicatrices aléatoires définies par

$$X_{iu} = \begin{cases} 1 & \text{si l'élément } u \text{ a été obtenu au i}^{\text{eme}} \text{ tirage} \\ 0 & \text{sinon} \end{cases}$$

*Lois des indicatrices $X_{iu}$*

Nous ferons les hypothèses classiques :

— l'échantillonnage ne permet pas les répétitions (les $n$ éléments de $\xi$ sont différents),

— à chaque tirage, tout individu n'appartenant pas encore à l'échantillon a la même probabilité d'être prélevé.

NOTE : le remplacement d'un indice par un signe + (resp. un point) est utilisé pour désigner la somme (resp. la moyenne) des nombres obtenus en donnant à cet indice toutes les valeurs possibles.

Dans ces conditions, on vérifie aisément que :
la loi conjointe des aléatoires $\{X_{iu};\ u = 1, \ldots, N\}$ et $\{X_{jv};\ v = 1, \ldots, N\}$ ne dépend pas du couple $(i, j)$.

$$\forall i, \sum_{u=1}^{N} X_{iu} = 1$$

$$X_{iu} X_{iv} = \begin{cases} X_{iu} \text{ si } u = v \\ 0 \quad \text{si } u \neq v \end{cases} \qquad X_{iu} X_{ju} = \begin{cases} X_{iu} \text{ si } j = i \\ 0 \quad \text{si } j \neq i \end{cases}$$

$$E(X_{iu}) = \text{Prob}(X_{iu} = 1) = 1/N$$

$$E(X_{iu}X_{jv}) = \text{Prob}(X_{iu} = 1, X_{jv} = 1) = 1/N(N-1) \text{ si } i \neq j \text{ et } u \neq v$$

$$E(X_{iu}X_{jv}X_{pw}) = 1/N(N-1)(N-2) \text{ si } i, j, p \text{ distincts et } u, v, w \text{ distincts}$$

$$E(X_{iu}X_{jv}X_{pw}X_{qh}) = 1/N(N-1)(N-2)(N-3) \text{ si } \begin{cases} i, j, p, q \text{ distincts} \\ u, v, w, h \text{ distincts} \end{cases}$$

*Étude des effets aléatoires dans la décomposition* 1

En utilisant le paramétrage de $\mu_{uv}$ défini dans la décomposition 1, on obtient :

$$\Pi_{ij} = \sum_{u \neq v} X_{iu}X_{jv} (\mu + \alpha_u + \beta_v + \theta_{uv})$$
$$= \mu + \sum_{u} X_{iu}\alpha_u + \sum_{v} X_{jv}\beta_v + \sum_{u \neq v} X_{iu}X_{jv}\theta_{uv}$$
$$= \mu + A_i + B_j + T_{ij}$$

où

$$A_i = \sum_{u=1}^{N} X_{iu}\alpha_u \qquad B_j = \sum_{v=1}^{N} X_{jv}\beta_v \qquad T_{ij} = \sum_{u \neq v} X_{iu}X_{jv}\theta_{uv}$$

Les propriétés des lois des « effets aléatoires » $A_i$, $B_j$, $T_{ij}$ sont une conséquence de celles indiquées pour les $X_{iu}$ et des relations entre les paramètres $\alpha_u$, $\beta_v$, $\theta_{uv}$ posées dans I; en particulier le calcul des moments d'ordre 1 et 2 est élémentaire, mais fastidieux; nous donnerons donc seulement les résultats.

1) La loi marginale du couple $(A_i, B_i)$ ne dépend pas de l'indice $i$; la loi marginale de l'aléatoire $T_{ij}$ ne dépend pas des indices $i$ et $j$.

2) Les aléatoires $A_i$, $B_j$, $T_{ij}$ sont centrées :

$$E(A_i) = E(B_j) = E(T_{ij}) = 0$$

3) Les deux ensembles $(A_i, B_i;\ i = 1, \ldots, n\}$ et $\{T_{ij};\ i, j = 1, \ldots, n;\ i \neq j\}$ sont non corrélés (les corrélations des aléatoires $A_i$, $T_{pq}$ et $B_i$, $T_{pq}$ sont nulles quels que soient les indices $i$, $p$, $q$).

4) Les variances et covariances des aléatoires $\{A_i, B_i;\ i = 1, \ldots, n\}$ sont définies par :

$$\text{var } A_i = \frac{1}{N} \sum_{u=1}^{N} \alpha^2{}_u = \gamma_A \qquad \text{cov}(A_i, A_j) = -\frac{1}{N-1}\gamma_A \text{ si } i \neq j$$

$$\text{var } B_i = \frac{1}{N} \sum_{u=1}^{N} \beta^2{}_u = \gamma_B \qquad \text{cov}(B_i, B_j) = -\frac{1}{N-1}\gamma_B \text{ si } i \neq j$$

$$\text{cov}\,(A_i, B_i) = \frac{1}{N} \sum_{u=1}^{N} \alpha_u \beta_u = \gamma_{AB}$$

$$\text{cov}\,(A_i, B_j) = -\frac{1}{N-1} \gamma_{AB} \quad \text{si } i \neq j$$

5) Les variances et covariances des aléatoires

$\{T_{ij};\ 1 \leqslant i \leqslant N,\ 1 \leqslant j \leqslant N;\ i \neq j\}$ sont définies par :

$$\text{var}\, T_{ij} = \frac{1}{N(N-1)} \sum_{u \neq v} \theta^2_{uv} = \gamma_T$$

$$\text{cov}\,(T_{ij}, T_{ji}) = \frac{1}{N(N-1)} \sum_{u \neq v} \theta_{uv}\, \theta_{vu} = \varepsilon_T$$

$$\left.\begin{aligned} \text{cov}\,(T_{ij}, T_{iq}) &= \text{cov}\,(T_{ij}, T_{pj}) = -\frac{1}{N-2} \gamma_T \\ \text{cov}\,(T_{ij}, T_{qi}) &= \text{cov}\,(T_{ij}, T_{jp}) = -\frac{1}{N-2} \varepsilon_T \end{aligned}\right\} \text{si } i \neq p \text{ et } j \neq q$$

$$\text{cov}\,(T_{ij}, T_{rq}) = \frac{1}{(N-2)(N-3)} (\gamma_T + \varepsilon_T) \text{ si } i, j, p, q \text{ sont tous différents.}$$

*Étude des effets aléatoires dans la décomposition 2*

En utilisant pour $\mu_{uv}$ le paramétrage défini dans la décomposition 2, on obtient :

$$\begin{aligned} \Pi_{ij} &= \sum_{u \neq v} X_{iu} X_{jv} (\mu + g_u + g_v + m_u - m_v + s_{uv} + r_{uv}) \\ &= \mu + G_i + G_j + M_i - M_j + S_{ij} + R_{ij} \end{aligned}$$

où les « effets aléatoires « $G_i$, $M_i$, $S_{ij}$, $R_{ij}$ peuvent être écrits en fonction de $A_i$, $B_i$, $T_{ij}$ comme $g_u$, $m_u$, $s_{uv}$, $r_{uv}$ en fonction de $\alpha_u$, $\beta_u$, $\theta_{uv}$ :

$$G_i = \sum_{u=1}^{N} X_{iu}\, g_u = \frac{A_i + B_i}{2} \qquad M_i = \sum_{u=1}^{N} X_{iu} m_u = \frac{A_i - B_i}{2}$$

$$S_{ij} = \sum_{u \neq v} X_{iu} X_{jv}\, s_{uv} = \frac{T_{ij} + T_{ji}}{2}$$

$$R_{ij} = \sum_{u \neq v} X_{iu} X_{jv}\, r_{uv} = \frac{T_{ij} - T_{ji}}{2}$$

Les propriétés des aléatoires $G_i$, $M_i$, $S_{ij}$, $R_{ij}$ se déduisent donc immédiatement de celles des aléatoires $A_i$, $B_i$, $T_{ij}$.

1) La loi marginale du couple $(G_i, M_i)$ ne dépend pas de l'indice $i$; les lois marginales des aléatoires $S_{ij}$ et $R_{ij}$ ne dépendent pas des indices $i$ et $j$.

2) Les aléatoires $G_i$, $M_i$, $S_{ij}$, $R_{ij}$ sont centrées.

3) Les trois ensembles $\{G_i, M_i;\ i = 1, \ldots, n\}$, $\{S_{ij},\ i, j = 1, \ldots, n;\ i \neq j\}$, $\{R_{ij};\ i, j = 1, \ldots, n;\ i \neq j\}$ sont non corrélés.

4) Les variances et covariances des aléatoires $\{G_i, M_i; i = 1, \ldots, n\}$ sont définies par :

$$\text{var } G_i = \frac{1}{4}(\gamma_A + \gamma_B + 2\gamma_{AB}) = \gamma_G$$

$$\text{cov }(G_i, G_j) = -\frac{1}{N-1}\gamma_G \text{ si } i \neq j$$

$$\text{var } M_i = \frac{1}{4}(\gamma_A + \gamma_B - 2\gamma_{AB}) = \gamma_M$$

$$\text{cov }(M_i, M_j) = -\frac{1}{N-1}\gamma_M \text{ si } i \neq j$$

$$\text{cov }(G_i, M_i) = \frac{1}{4}(\gamma_A - \gamma_B) = \gamma_{GM}$$

$$\text{cov }(G_i, M_j) = -\frac{1}{N-1}\gamma_{GM} \text{ si } i \neq j$$

5) Les variances et covariances des aléatoires $S_{ij}$ qui forment un tableau symétrique $(S_{ij} = S_{ji})$ sont définies par :

$$\text{var } S_{ij} = \frac{1}{2}(\gamma_T + \varepsilon_T) = \gamma_S$$

$$\text{cov }(S_{ij}, S_{iq}) = -\frac{1}{N-2}\gamma_S \text{ si } j \neq q$$

$$\text{cov }(S_{ij}, S_{pq}) = \frac{2\gamma_S}{(N-2)(N-3)} \text{ si } i, j, p, q \text{ sont tous différents.}$$

6) Les variances et covariances des aléatoires $R_{ij}$ qui forment un tableau antisymétrique $(R_{ij} + R_{ji} = 0)$ sont définies par :

$$\text{var } R_{ij} = \frac{1}{2}(\gamma_T - \varepsilon_T) = \gamma_R$$

$$\text{cov }(R_{ij}, R_{iq}) = \frac{-1}{N-2}\gamma_R \text{ si } j \neq q$$

$$\text{cov }(R_{ij}, R_{pq}) = 0 \text{ si } i, j. p. q \text{ sont tous différents.}$$

*Étude des effets aléatoires dans la décomposition* 3

Dans ce cas

$$\Pi_{ij} = \mu + G_i + G_j + S_{ij} + \check{R}_{ij}$$

où

$$\check{R}_{ij} = R_{ij} + M_i - M_j$$

Les résultats indiqués pour les aléatoires $\{G_i; i = 1, \ldots, n\}$ et $\{S_{ij}; i, j = 1, \ldots, n; i \neq j\}$ restent valables; il suffit donc d'étudier les aléatoires $\check{R}_{ij}$.

1) Les aléatoires $\check{R}_{ij}$ ont toutes même loi marginale et sont centrées.

2) L'ensemble $\{\check{R}_{ij}; i, j = 1, \ldots, n; i \neq j\}$ n'est pas corrélé avec l'ensemble

$\{S_{ij};\ i, j = 1, \ldots, n;\ i \neq j\}$. Mais les corrélations entre les aléatoires $R_{ij}$ et $G_p$ ne sont pas toutes nulles :

$$\operatorname{cov}(\check{R}_{ij}, G_i) = \operatorname{cov}(M_i - M_j, G_i) = \frac{N}{N-1}\gamma_{GM}$$

$$\operatorname{cov}(\check{R}_{ij}, G_p) = 0 \text{ si } p \neq i \text{ et } p \neq j$$

3) Les variances et covariances des aléatoires $R_{ij}$ qui forment un tableau antisymétrique sont définies par :

$$\operatorname{var} \check{R}_{ij} = \gamma_R + \frac{2N}{N-1}\gamma_M$$

$$\operatorname{cov}(\check{R}_{ij}, \check{R}_{iq}) = \frac{N}{N-1}\gamma_M - \frac{1}{N-2}\gamma_R \text{ si } j \neq q$$

$$\operatorname{cov}(\check{R}_{ij}, \check{R}_{pq}) = 0 \text{ si } i, j, p, q \text{ sont tous différents.}$$

*Remarques :*

L'intérêt des formules précédentes est double :

— Ces formules sont la traduction fidèle de la pratique expérimentale consistant à travailler sur un échantillon aléatoire prélevé dans la population $\mathcal{I}$ étudiée.

— Leur validité pour toute population $\mathcal{I}$, quel qu'en soit l'effectif N, si les hypothèses relatives au mode d'échantillonnage sont satisfaites, permet d'écrire dans tous les cas des résultats exacts.

Leur défaut est que la structure des variances et covariances ainsi définies est relativement complexe. Nous allons donc simplifier l'étude en remplaçant 1 /N par zéro c'est-à-dire en considérant des populations $\mathcal{I}$ « infinies ». L'ordre de grandeur de l'approximation faite s'obtient aisément en se reportant aux formules exactes.

## III. — *Population infinie*

Nous représenterons successivement les trois modèles dans ce cas particulier en donnant seulement les covariances non nulles.

*Décomposition* 1 : Le modèle :

$$\Pi_{ij} = \mu + A_i + B_j + T_{ij}$$

dépend des seuls paramètres $\mu$ et

$$\operatorname{var} A_i = \gamma_A \qquad \operatorname{var} B_i = \gamma_B \qquad \operatorname{cov}(A_i, B_i) = \gamma_{AB}$$
$$\operatorname{var} T_{ij} = \gamma_T \qquad \operatorname{cov}(T_{ij}, T_{ji}) = \varepsilon_T$$

*Décomposition* 2 : Dans ce cas :

$$\Pi_{ij} = \mu + G_i + G_j + M_i - M_j + S_{ij} + R_{ij}$$

où par définition :

$$S_{ij} - S_{ji} = 0 \qquad R_{ij} + R_{ji} = 0$$

Le modèle dépend des seuls paramètres $\mu$ et

$$\text{var } G_i = \gamma_G = \frac{1}{4}(\gamma_A + \gamma_B + 2\gamma_{AB}) \qquad \text{var } M_i = \gamma_M = \frac{1}{4}(\gamma_A + \gamma_B - 2\gamma_{AB})$$

$$\text{cov }(G_i, M_i) = \gamma_{GM} = \frac{1}{4}(\gamma_A - \gamma_B)$$

$$\text{var } S_{ij} = \gamma_S = \frac{1}{2}(\gamma_T + \varepsilon_T) \qquad \text{var } R_{ij} = \gamma_R = \frac{1}{2}(\gamma_T - \varepsilon_T)$$

*Décomposition* 3 : Le modèle

$$\Pi_{ij} = \mu + G_i + G_j + S_{ij} + \check{R}_{ij}$$

où

$$S_{ij} - S_{ji} = 0 \qquad \check{R}_{ij} + \check{R}_{ji} = 0$$

dépend des seuls paramètres $\mu$ et

$$\text{var } G_i = \gamma_G \qquad \text{var } S_{ij} = \gamma_S \qquad \text{var } \check{R}_{ij} = \gamma_R + 2\gamma_M = \gamma_{\check{R}}$$

$$\text{cov }(G_i, \check{R}_{ij}) = -\text{cov }(G_i, \check{R}_{ji}) = \gamma_{GM}$$

$$\text{cov }(\check{R}_{ij}, \check{R}_{iq}) = \gamma_M \text{ si } j \neq q$$

*Remarques :*

1) Dans les trois modèles, les variances et covariances dépendent de 5 paramètres inconnus; l'estimation des paramètres d'un modèle fournit immédiatement l'estimation des paramètres des autres modèles.

2) Si on fait l'hypothèse que la loi conjointe des effets aléatoires est normale, il y a équivalence entre non corrélation et indépendance; on peut donc affirmer que :

— dans la décomposition 1, tous les couples $(A_i, B_i)$ et $(T_{pq}, T_{qp})$ sont indépendants,

— dans la décomposition 2, tous les couples $(G_i, M_i)$ et toutes les aléatoires $S_{pq}$ et $R_{hl}$ sont indépendants,

— dans la décomposition 3, le seul résultat simple qu'on puisse donner est que les aléatoires $S_{ij}$ sont indépendantes entre elles et indépendantes de l'ensemble des autres effets aléatoires.

*Discussion :*

1) La covariance $\gamma_{GM}$ (ou la corrélation $\rho_{GM}$) apporte une information importante qu'il est regrettable de négliger.

Par exemple, dans une opération de sélection sur descendance basée sur l'aptitude générale G des parents, la liaison entre les aléatoires G et M a des conséquences importantes sur le résultat obtenu : si la corrélation $\rho_{GM}$ est forte, les effets femelle G + M et mâle G — M seront affectés de manière très différente. Il est alors raisonnable d'envisager plusieurs stratégies de sélection tenant compte de la corrélation entre G et M et de comparer leurs coûts et leurs efficacités.

2) De nombreux auteurs (Cockeram, Waerden) ont supposé les effets aléatoires indépendants et donc la covariance :

$$\gamma_{GM} = \frac{1}{4}(\gamma_A - \gamma_B)$$

nulle. Cette hypothèse n'a aucun fondement mathématique (c'est la conséquence de l'étude précédente) et ne peut être justifiée que par des raisons biologiques tenant à la nature particulière du phénomène étudié. Elle est souvent inacceptable :

*Exemple* 1 : L'aléatoire $\Pi_{ij}$ est la performance moyenne des individus issus du croisement $(i, j)$. Les effets $G_i$ et $M_i$ sont influencés par divers facteurs communs, dont en particulier le genome de l'individu $i$; ces effets ne sont donc pas indépendants.

*Exemple* 2 : L'aléatoire $\Pi_{ij}$ est le rendement moyen de la lignée $i$ en présence de la lignée $j$. La variabilité de l'effet producteur $A_i$ mesurée par la variance $\gamma_A$ est *a priori* différente de la variabilité de l'effet compétiteur $B_i$ mesurée par la variance $\gamma_B$; la covariance $\gamma_{GM}$ n'est donc pas nulle.

3) La décomposition 3 n'est pas adaptée au cas des effets aléatoires. Dans cette décomposition, il existe des corrélations non nulles entre les aptitudes générales et les effets réciproques; de plus les effets réciproques sont corrélés entre eux. Le modèle correspondant ne fournit donc pas une description simple de la structure de la matrice des covariances des observations.

Le modèle le plus intéressant est associé à la décomposition 2; il permet en effet une étude séparée de trois ensembles non corrélés (indépendants sous hypothèse de normalité) :

— aptitudes générales et effets réciproques moyens,
— aptitudes spécifiques,
— effets réciproques spécifiques.

Le modèle 1 peut cependant être utilisé si, pour le problème étudié, la signification des effets aléatoires de ce modèle est intéressante.

## IV. — *Prise en compte de l'erreur expérimentale et environnementale*

L'étude précédente était relative à l'espérance $\Pi_{ij}$ des observations relatives à la combinaisons $(i, j)$. Dans l'interprétation des résultats $y_{ij,k}$ ($k^{\text{ème}}$ répétition de la combinaison $i, j$) il faut introduire « l'erreur « expérimentale ou environnementale et nous admettrons, comme on le fait en général, que cette erreur est indépendante des effets aléatoires. Le modèle s'écrit alors :

$$Y_{ij,k} = \Pi_{ij} + E_{ij,k}$$

et avec la décomposition 2 par exemple :

$$Y_{ij,k} = \mu + G_i + G_j + M_i - M_j + S_{ij} + R_{ij} + E_{ij,k}$$

*Hypothèses :*

*a*) Indépendance de l'ensemble des erreurs expérimentales et de l'ensemble des effets aléatoires.

*b)* Pour les effets aléatoires, les hypothèses énoncées en III.

*c)* Pour les erreurs expérimentales $E_{ij,k}$, deux cas sont à distinguer:

— les aléatoires $E_{ij,k}$ sont indépendantes et ont même variance $\gamma_E$,

— les couples $(E_{ij,k}, E_{ji,k})$ sont indépendants; les aléatoires $E_{ij,k}$ et $E_{ji,k}$ ont même variance $\gamma_E$ et une corrélation $\tau$ ou, propriété équivalente : les aléatoires $(E_{ij,k} + E_{ji,k})/2$ et $(E_{ij,k} - E_{ji,k})/2$ sont indépendantes et ont des variances égales à $\gamma_E(1 + \tau)/2$ et $\gamma_E(1 - \tau)/2$.

Si $Y_{ij,k}$ est la performance du $k^{\text{ème}}$ individu issu du croisement $i$, $j$ et si tous les individus sont placés dans un milieu commun, les erreurs $E_{ij,k}$ seront considérées comme indépendantes.

Si $Y_{ij,k}$ est le rendement de la lignée $i$ en présence de la lignée $j$ dans la $k^{\text{ème}}$ répétition du dispositif les résultats $Y_{ij,k}$ et $Y_{ji,k}$ sont relatifs à une même parcelle et les erreurs $E_{ij,k}$ et $E_{ji,k}$ sont évidemment corrélées.

Le modèle écrit plus haut dépend donc des paramètres inconnus :

$$\mu \quad \gamma_G \quad \gamma_M \quad \gamma_{GM} \quad \gamma_S \quad \gamma_R \quad \gamma_E \text{ (ou } \gamma_E \text{ et } \tau)$$

(si les répétitions ont été disposées en blocs complets, il suffit de remplacer $\mu$ par $\mu_k$).

## Deuxième partie

## Étude statistique du modèle diallèle aléatoire

L'objet de l'étude est l'interprétation des observations $y_{ij,k}$ $(i, j = 1, 2, \ldots, n;$ $i \neq j; k = 1, \ldots, b)$ faites dans un dispositif diallèle en supposant que les $n$ individus objets de l'expérimentation sont un échantillon prélevé au hasard avec équiprobabilité dans une population très grande assimilée à une population infinie. Nous donnerons, sous l'hypothèse de normalité, les lois des statistiques intéressantes ce qui permet :

— de définir des estimateurs optimaux des paramètres du modèle et de discuter les propriétés de ces estimateurs;
— de calculer la puissance des tests et d'éclairer le choix entre divers tests d'une même hypothèse;
— de donner des indications sur le choix des dispositifs expérimentaux.

La simple étude des espérances de sommes de carrés convenablement choisies à laquelle on se limite souvent permet de définir des estimateurs bien centrés mais ne peut apporter la solution des problèmes précédents.

Le modèle s'obtient en écrivant :

$$Y_{ij,k} = \Pi_{ij} + E_{ij,k}$$

et en utilisant une des trois décompositions indiquées dans la première partie pour $\Pi_{ij}$. Ces décompositions sont équivalentes : ce sont trois manières différentes d'écrire que la matrice des variances-covariances des $Y_{ij,k}$ a une structure parti-

culière et la connaissance des paramètres d'un modèle entraîne immédiatement celle des paramètres des autres modèles.

Nous avons choisi d'utiliser la décomposition 2 qui donne la description la plus simple de la structure des covariances des observations : l'estimation des paramètres du modèle en est facilitée. De plus, avec ce modèle, les estimateurs des variances sont les statistiques habituelles.

Nous considérons un dispositif en blocs complets et *nous supposons les « erreurs expérimentales »* $E_{ij,k}$ *indépendantes*. Les modifications à apporter dans le cas où $E_{ij,k}$ et $E_{ji,k}$ sont corrélées seront indiquées dans l'annexe 1.

L'étude de la première partie nous conduit à poser :

Modèle

$$Y_{ij,k} = \mu + \mathfrak{I}_k + G_i + G_j + M_i - M_j + S_{ij} + R_{ij} + E_{ij,k}$$
$$S_{ij} - S_{ji} = 0 \qquad R_{ij} + R_{ji} = 0$$

Les aléatoires $G_i$, $M_i$, $S_{ij}$, $R_{ij}$, $E_{ijk}$ :

— ont une loi conjointe normale;

— sont centrées et ont des variances $\gamma_G$, $\gamma_M$, $\gamma_S$, $\gamma_R$, $\gamma_E$ indépendantes des indices;

— ont des covariances nulles à l'exception de :

$$\text{cov}\,(G_i, M_i) = \gamma_{GM} \quad i = 1, \ldots, n$$

Nous allons présenter les principaux résultats de l'étude de ce modèle en renvoyant en annexe les démonstrations; nous pensons ainsi faciliter la discussion de ces résultats. Nous noterons Y (resp. $y$) l'ensemble des aléatoires $Y_{ij,k}$ (resp. des résultats $y_{ij,k}$).

## I. — *Estimation des variances et covariances et tests d'hypothèses*

### *Définition et distribution des statistiques utilisées*

Les statistiques étudiées ont été choisies parce que les seuls estimateurs intéressants des variances $\gamma_G$, $\gamma_M$, $\gamma_S$, $\gamma_R$, $\gamma_E$ et de la covariance $\gamma_{MG}$ sont des fonctions de ces statistiques. Nous verrons en effet en II qu'à tout estimateur $\Phi$ peut être associé un estimateur $\tilde{\Phi}$ fonction de ces statistiques et meilleur que le premier (ayant même espérance et une variance inférieure).

1) Nous poserons :

$$Q_1(Y) = \sum_{i \neq j,k} (Y_{ij,k} - Y_{ij,\bullet} - Y_{\bullet\bullet,k} + Y_{\bullet\bullet\bullet})^2$$

$$Q_2(Y) = \sum_{i<j} \left[\frac{Y_{ij} + Y_{ji}}{2} - \frac{Y_{i+} + Y_{+i}}{2(n-2)} - \frac{Y_{j+} + Y_{+j}}{2(n-2)} + \frac{Y_{++}}{(n-1)(n-2)}\right]^2$$

$$Q_3(Y) = \sum_{i<j} \left[\frac{Y_{ij} - Y_{ji}}{2} - \frac{Y_{i+} - Y_{+i}}{2n} + \frac{Y_{j+} - Y_{+j}}{2n}\right]^2$$

$$Q_4(Y) = \sum_{i=1}^{n} \left[\frac{Y_{i+} + Y_{+i}}{2} - \frac{Y_{++}}{n}\right]^2$$

$$Q_5(Y) = \sum_{i=1}^{n} \left[\frac{Y_{i+} - Y_{+i}}{2}\right]^2$$

$$Q_6(Y) = \sum_{i=1}^{n} \left[\frac{Y_{i+} + Y_{+i}}{2} - \frac{Y_{++}}{n}\right]\left[\frac{Y_{i+} - Y_{+i}}{2}\right]$$

2) Les aléatoires $Q_1(Y)$, $Q_2(Y)$, $Q_3(Y)$ et l'ensemble $\{Q_4(Y), Q_5(Y), Q_6(Y)\}$ sont indépendants.

3) Les aléatoires $Q_1(Y)$, $Q_2(Y)$, $Q_3(Y)$ sont proportionnelles à des $\chi^2$ :

$$Q_1(Y) \sim \gamma_E \chi^2 \left[(b - 1)(n^2 - n - 1)\right]$$

$$Q_2(Y) \sim \left(\gamma_S + \frac{\gamma_E}{2b}\right) \chi^2 \left[\frac{n(n-3)}{2}\right]$$

$$Q_3(Y) \sim \left(\gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right) \chi^2 \left[n - 1)(n - 2)/2\right]$$

(Le symbole $\sim$ signifie que l'aléatoire placée à gauche a la loi indiquée à droite.)

4) La loi conjointe de $Q_4(Y)$, $Q(_5Y)$, $Q_6(Y)$ est la loi de Wishart $W_2(n - 1, \Gamma_1)$ à $n - 1$ degrés de liberté associée à la matrice :

$$\Gamma_1 = \begin{bmatrix} (n-2)\left[(n-2)\gamma_G + \gamma_S + \frac{\gamma_E}{2b}\right] & n(n-2)\gamma_{GM} \\ n(n-2)\gamma_{GM} & n\left[n\gamma_M + \gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right] \end{bmatrix}$$

En effet, la matrice $\qquad Q = \begin{bmatrix} Q_4 & Q_6 \\ Q_6 & Q_5 \end{bmatrix}$

est la matrice des sommes de carrés et produits centrés (au coefficient $n - 1$ près la matrice des variances et covariances empiriques) associée aux $n$ aléatoires bidimensionnelles :

$$\frac{Y_{i+} + Y_{+i}}{2} \qquad \frac{Y_{i+} - Y_{+i}}{2}$$

On sait que la loi de Wishart est, pour ces matrices, la généralisation de la loi de $\chi^2$ bien connue pour les sommes de carrés centrés (au coefficient $n - 1$ près

*Rappel* : Nous remplaçons un indice (ou plusieurs) par un point (resp. un signe +) pour désigner la moyenne, (resp. la somme) des quantités obtenues en donnant à cet indice, ou à ces indices toutes les valeurs possibles.

Nous écrivons $Y_{ij},.$ ou $Y_{ij}$ indifféremment.

les variances empiriques). En particulier les lois marginales des sommes de carrés centrés (termes diagonaux de Q sont des lois de $\chi^2$ :

$$Q_4(Y) \sim (n-2)\left[(n-2)\gamma_G + \gamma_S + \frac{\gamma_E}{2b}\right]\chi^2(n-1)$$

$$Q_5(Y) \sim n\left[n\gamma_M + \gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right]\chi^2(n-1)$$

*Remarque :* Les statistiques $Q_2$, $Q_3$, $Q_4$, $Q_5$ sont celles utilisées habituellement quand les sommes et différences des résultats relatifs aux combinaisons $(i, j)$ et $(j, i)$ sont analysées séparément. La statistique $Q_6$ est analogue aux statistiques $Q_4$ et $Q_5$; mais les carrés y sont remplacés par des produits.

*Estimation des variances :*

| Paramètre | Estimateur sans biais |
|---|---|
| $\gamma_E$ | $\dfrac{Q_1(Y)}{(b-1)(n^2-n-1)}$ |
| $\gamma_S$ | $\dfrac{Q_2(Y)}{n(n-3)/2} - \dfrac{Q_1(Y)}{2b(b-1)(n^2-n-1)}$ |
| $\gamma_R$ | $\dfrac{Q_3(Y)}{(n-1)(n-2)/2} - \dfrac{Q_1(Y)}{2b(b-1)(n^2-n-1)}$ |
| $\gamma_G$ | $\dfrac{Q_4(Y)}{(n-1)(n-2)^2} - \dfrac{2Q_2(Y)}{n(n-2)(n-3)}$ |
| $\gamma_M$ | $\dfrac{Q_5(Y)}{n^2(n-1)} - \dfrac{2Q_3(Y)}{n(n-1)(n-2)}$ |

Ces estimateurs, sauf le premier, sont des combinaisons linéaires de deux $\chi^2$ indépendants et ont des lois de Wang. Leurs variances se calculent sans difficultés. La construction des intervalles de confiance peut être faite par la méthode approchée de Bulmer (voir par exemple Scheffé, *Analysis of variance*, Chapitre 7, pages 231 à 235).

*Estimation des rapports de variances et tests d'hypothèses*

Les statistiques :

$$\frac{Q_2(Y)}{n(n-3)/2} : \frac{Q_1(Y)}{(b-1)(n^2-n-1)} \sim \left(\frac{\gamma_S}{\gamma_E} + \frac{1}{2b}\right) F[n(n-3)/2;\ (b-1)(n^2-n-1)]$$

$$\frac{Q_3(Y)}{(n-1)(n-2)/2} : \frac{Q_1(Y)}{(b-1)(n^2-n-1)} \sim \left(\frac{\gamma_R}{\gamma_E} + \frac{1}{2b}\right) F[(n-1)(n-2)/2;\ (b-1)(n^2-n-1)]$$

$$\frac{Q_4}{(n-1)(n-2)^2} : \frac{Q_2(Y)}{n(n-3)/2} \sim \left(\frac{\gamma_G}{\gamma_S + (\gamma_E/2b)} + \frac{1}{n-2}\right) F[n-1;\ n(n-3)/2]$$

$$\frac{Q_5(Y)}{n^2(n-1)} : \frac{Q_3(Y)}{(n-1)(n-2)/2} \sim \left(\frac{\gamma_M}{\gamma_R + (\gamma_E/2b)} + \frac{1}{n}\right) F[n-1;\ (n-1)(n-2)/2]$$

permettent d'estimer les rapports :

$$\frac{\gamma_S}{\gamma_E} \quad \frac{\gamma_R}{\gamma_E} \quad \frac{\gamma_G}{\gamma_S + (\gamma_E/2b)} \quad \frac{\gamma_M}{\gamma_R + (\gamma_E/2b)}$$

Par exemple, un estimateur bien centré du troisième rapport est :

$$\left(\frac{Q_4}{(n-1)(n-2)^2} : \frac{Q_2}{n(n-3)/2}\right)\left(1 - \frac{2}{n(n-3)/2}\right) - \frac{1}{n-2}$$

(en effet l'espérance de $F_{\nu_1,\nu_2}$ est égale à $(1 - 2/\nu_2)^{-1}$)

Les intervalles de confiance de ces rapports se construisent aisément en utilisant les tables numériques de la loi F.

Pour tester l'hypothèse qu'une des variances est nulle, on utilise le rapport où cette variance figure en numérateur. Par exemple, sous l'hypothèse $H_0$ « $\gamma_R = 0$ » :

$$\frac{Q_3(Y)}{(n-1)(n-2)/2} : \frac{Q_1(Y)}{(b-1)(n^2-n-1)} \sim \frac{1}{b} F[(n-1)(n-2)/2;\ (b-1)(n^2-n-1)]$$

L'hypothèse $H_0$ sera donc rejetée au niveau $\alpha$ si :

$$\frac{Q_3(y)}{(n-1)(n-2)/2} : \frac{Q_1(y)}{(b-1)(n^2-n-1)} \geqslant \frac{1}{b} f$$

où $f$ est le nombre lu dans la table de la loi F pour le niveau choisi (la notation $y$ désigne l'ensemble des valeurs expérimentales $y_{ij,k}$ prises par les aléatoires $Y_{ij,k}$).

*Étude de la covariance $\gamma_{GM}$ et du coefficient de corrélation $\rho_{GM}$*

La statistique :

$$\frac{Q_6(Y)}{n(n-1)(n-2)} = \frac{1}{n(n-1)(n-2)} \sum_{i=1}^{n} \left(\frac{Y_{i+} + Y_{+i}}{2} - \frac{Y_{++}}{n}\right)\left(\frac{Y_{i+} - Y_{+i}}{2}\right)$$

est un estimateur sans biais de $\gamma_{GM}$ dont la variance est :

$$\frac{1}{n-1}\left\{\gamma^2_{GM} + \left[\gamma_G + \frac{1}{n-2}\left(\gamma_S + \frac{\gamma_E}{2b}\right)\right]\left[\gamma_M + \frac{1}{n}\left(\gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right)\right]\right\}$$

La loi de $Q_6(Y)/(n-1)$ qui est celle d'une covariance empirique dépend des trois termes de la matrice $\Gamma_1$ et n'est pas simple. On utilisera donc de préférence la statistique

$$U = \frac{Q_6(Y)}{\sqrt{Q_4(Y)\, Q_5(Y)}}$$

qui a la loi d'une corrélation empirique, loi qui dépend du seul paramètre :

$$\rho = \frac{\gamma_{GM}}{\sqrt{\left[\gamma_G + \frac{1}{n-2}\left(\gamma_S + \frac{\gamma_E}{2b}\right)\right]\left[\gamma_M + \frac{1}{n}\left(\gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right)\right]}}$$

On notera que $\rho$ a même signe que la corrélation $\rho_{GM}$ de $G_i$ et $M_i$ et sous-estime

la valeur absolue de cette corrélation (l'erreur est faible si $n$ n'est pas trop petit ou si les aptitudes spécifiques et effets différentiels réciproques sont petits).

Pour tester l'hypothèse $H_0$ « $\gamma_{GM} = 0$ » équivalente à $\rho = 0$, on utilise la statistique :

$$\sqrt{n-2}\,U/\sqrt{1-U^2}$$

qui sous l'hypothèse $H_0$ a une loi de Student à $n - 1$ degrés de liberté.

L'hypothèse $H_0$ sera rejetée au niveau $\alpha$ si :

$$\sqrt{n-2}\,|u|/\sqrt{1-u^2} \geqslant t$$

où $u$ est la valeur expérimentale de U et $t$ la valeur lue dans la table de Student à $n - 2$ degrés de liberté pour le niveau choisi (au point $t$, la fonction de répartition a la valeur $1 - \alpha/2$).

Si $n$ n'est pas trop petit (au moins égal à 10), on peut utiliser la transformation de Fisher; avec une bonne approximation :

$$\frac{1}{2}\ln\frac{1+U}{1-U} \sim N\left(\frac{1}{2}\ln\frac{1+\rho}{1-\rho},\ \frac{1}{n-3}\right)$$

Un intervalle de confiance approché pour $\rho$ avec un risque de 5 p. 100 s'obtient donc en écrivant :

$$\left|\frac{1}{2}\ln\frac{1+\rho}{1-\rho} - \frac{1}{2}\ln\frac{1+u}{1-u}\right| < \frac{2}{\sqrt{n-3}}$$

Pour construire un intervalle de confiance de $\rho_{GM}$, on notera que :

$$\rho_{GM} = \rho\left[1 - \frac{\gamma_S + (\gamma_E/2b)}{(n-2)\gamma_G + \gamma_S + (\gamma_E/2n)}\right]^{-\frac{1}{2}}\left[1 - \frac{\gamma_R + (\gamma_E/2b)}{n\gamma_M + \gamma_R + (\gamma_E/2b)}\right]^{-\frac{1}{2}}$$

On construira avec des risques $\pi_1, \pi_2, \pi_3$ des intervalles de confiance $[\rho', \rho'']$, $[\varepsilon', \varepsilon'']$, $[\eta', \eta'']$ des paramètres $\rho$, $\varepsilon$ et $\eta$ où :

$$\varepsilon = \frac{\gamma_S + (\gamma_E/2b)}{(n-2)\gamma_G + \gamma_S + (\gamma_E/2b)} \qquad \eta = \frac{\gamma_R + (\gamma_E/2b)}{n\gamma_M + \gamma_R + (\gamma_E/2b)}$$

Pour les paramètres $\varepsilon$ et $\eta$, on utilisera les statistiques :

$$\frac{Q_2(Y)}{n(n-3)/2} : \frac{Q_4(Y)}{(n-1)(n-2)} \sim \varepsilon\, F[n(n-3)/2,\ n-1]$$

$$\frac{Q_3(Y)}{(n-1)(n-2)/2} : \frac{Q_5(Y)}{n(n-1)} \sim \eta\, F[n-1)(n-2)/2,\ n-1]$$

Les valeurs :

$$\rho'_{GM} = \rho'(1-\varepsilon')^{-1/2} \quad (1-\eta')^{-1/2} \qquad \rho''_{GM} = \rho''(1-\varepsilon'')^{-1/2} \quad (1-\eta'')^{-1/2}$$

sont alors les extrémités d'un intervalle de confiance pour $\rho_{GM}$ avec un risque

$$\pi \leqslant \pi_1 + \pi_2 + \pi_3$$

Dans l'expression de $\rho_{GM}$, le terme $\rho$ est prépondérant; on aura donc intérêt à prendre pour $\pi_1$, $\pi_2$, $\pi_3$ des valeurs inégales, par exemple si on a choisi $\pi = 10$ p. 100

$$\pi_1 = 8\ \% \qquad \pi_2 = \pi_3 = 1\ \%$$

*Remarque :*

L'estimation d'une corrélation est très imprécise si le nombre d'observations, ici $n$, est faible, Mais dans un diallèle complet, il est très difficile d'augmentet beaucoup ce nombre (si $n = 30$, le nombre d'observations dans chaque bloc est égal à 870). Il est donc nécessaire d'envisager d'autres dispositifs et nous considérerons en IV la juxtaposition de plusieurs diallèles.

## II. — *Optimalité des estimateurs utilisés*

La justification du choix des estimateurs étudiés dans I résulte du théorème suivant :

> Les moyennes des blocs :
> $Y_{..,k}$ $(k = 1, \ldots, b)$
> et les formes quadratiques
> $Q_p$ $(p = 1, \ldots, 6)$
> forment une famille exhaustive minimale complète.

Nous allons commenter cet énoncé un peu abrupt en étudiant sa signification pour l'estimation d'une fonction $\phi$ quelconque des paramètres du modèle (par exemple des variances et covariances).

1) A tout estimateur $\Phi$ de $\phi$, on peut associer un estimateur $\tilde{\Phi}$, fonction des statistiques $Y_{..,k}$ et $Q_p$, ayant même espérance que $\Phi$ tel que :

$$E(\tilde{\Phi} - \phi)^2 \leqslant E(\Phi - \phi)^2$$

(le carré de l'écart pris ici comme mesure du coût d'une erreur peut-être remplacé par une fonction convexe quelconque).

2) Si les aléatoires $\psi_1$ et $\psi_2$ sont toutes deux fonctions des statistiques $Y_{..,k}$ et $Q_p$ et ont même espérance, elles sont égales.

3) Si l'aléatoire $\Phi_0$ est fonction des statistiques $Y_{..,k}$ et $Q_p$ et si $E(\Phi_0) = \phi$ $\Phi_0$ est l'estimateur sans biais de $\phi$ de variance minimum.

La propriété 3 est conséquence de 1 et 2. En effet, si $\Phi$ est un estimateur sans biais de $\phi$, il existe une fonction $\tilde{\Phi}$ des $Y_{..,k}$ et $Q_p$ ayant même espérance $\phi$ que $\Phi$ et de variance inférieure (propriété 1). L'aléatoire $\tilde{\Phi}$ a même espérance $\phi$ que $\Phi_0$; elle est donc égale à $\Phi_0$ (propriété 2). Quel que soit l'estimateur sans biais $\Phi$ de $\phi$ :

$$\text{var } \Phi_0 \leqslant \text{var } \Phi$$

Les estimateurs des variances et covariances définis dans I sont des combi-

naisons linéaires des formes $Q_p$ et sont sans biais; la propriété 3 est donc valable et nous énoncerons :

> Les estimateurs de variances $\gamma_R$, $\gamma_S$, $\gamma_E$, $\gamma_G$, $\gamma_M$ et de la covariance $\gamma_{GM}$ définis précédemment sont optimaux dans la classe des estimateurs bien centrés pour toute fonction de coût convexe; en particulier, ils sont de variance minimum.

## III. — *Études des effets réciproques dans le modèle 3*

Le résultat de II vaut pour toute fonction $\phi$ des paramètres du modèle et en particulier pour :

$$\gamma_{\breve{R}} + \frac{\gamma_E}{2b} = 2\gamma_M + \gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b} \quad \text{et} \quad \gamma_{\breve{R}} = 2\gamma_M + \gamma_R$$

Les estimateurs optimaux sont les fonctions des formes $Q_p$ dont les espérances sont égales aux paramètres étudiés, soit respectivement :

$$Q(Y) = \frac{2Q_5(Y)}{n^2(n-1)} + \frac{2Q_3(Y)}{(n-1)(n-2)}\left(1 - \frac{2}{n}\right) = \frac{2Q_5(Y)}{n^2(n-1)} + \frac{2Q_3(Y)}{n(n-1)}$$

$$Q(Y) - \frac{Q_1(Y)}{2b(b-1)(n^2-n-1)}$$

L'identité algébrique :

$$\frac{2Q_5(Y)}{n} + 2Q_3(Y) = \sum_{i\neq j}\left(\frac{Y_{ij}-Y_{ji}}{2}\right)^2 = 2\sum_{i<j}\left(\frac{Y_{ij}-Y_{ji}}{2}\right)^2$$

montre que Q(Y) est l'estimateur classique de $\gamma_{\breve{R}} + (\gamma_E/2b)$. Cet estimateur est la combinaison linéaire de deux $\chi^2$ indépendants :

$$\frac{n(n-1)}{2}Q(Y) \sim \left(n\gamma_M + \gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right)\chi^2(n-1) + \left(\gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right)\chi^2[(n-1)(n-2)/2]$$

et n'est pas proportionnel à un $\chi^2$ à $n(n-1)/2$ degrés de liberté sauf dans le cas particulier où $\gamma_M = 0$.

Avec une bonne approximation, on peut admettre que :

$$\frac{n(n-1)}{2}Q(Y) \sim \theta\,\chi^2_\nu$$

où les deux paramètres $\theta$ et $\nu$ sont tels que l'espérance et la variance des deux lois sont égales et satisfont donc aux équations :

$$\theta\nu = \frac{n(n-1)}{2}\left(2\gamma_M + \gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right)$$

$$\theta^2\nu = \frac{n(n-1)}{2}\left[2n\gamma^2_M + 4\gamma_M\left(\gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right) + \left(\gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right)^2\right]$$

D'où, en particulier :

$$\nu = \frac{n(n-1)}{2}\left(2\gamma_M + \gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right)^2 \Big/ \left[2n\gamma^2_M + 4\gamma_M\left(\gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right) + \left(\gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right)^2\right]$$

Le paramètre $\nu$ est une fonction décroissante du rapport

$$\gamma_M \Big/ \left(\gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right)$$

dont les valeurs extrêmes sont :

$$n(n-1)/2 \quad \text{si} \quad \gamma_M = 0$$

$$n-1 \quad \text{si} \quad \gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b} = 0$$

Le nombre de degrés de liberté de la loi de Q(Y) est toujours inférieur à la valeur généralement admise $n(n-1)/2$ et peut être beaucoup plus petit si les effets maternels sont beaucoup plus importants que les effets différentiels réciproques. L'intervalle de confiance de $\gamma_{\breve{R}}$ est donc plus grand que celui qu'on utilise habituellement.

*Test de l'existence des effets réciproques*

Sous l'hypothèse nulle « $\gamma_{\breve{R}} = 0$ »c'est-à-dire « $\gamma_M = 0$ et $\gamma_R = 0$ », la statistique :

$$H = \frac{2bQ(Y)}{Q_1(Y)/(b-1)(n^2-n-1)}$$

a une loi de Fisher Snedecor :

$$F[n(n-1)/2,\ (b-1)(n^2-n-1)]$$

L'hypothèse « $\gamma_{\breve{R}} = 0$ » sera donc rejetée au niveau choisi (0,95) par exemple) si la valeur expérimentale de cette statistique dépasse la valeur lue dans la table de F.

La puissance du test se calcule en utilisant la loi approchée de Q(Y). Avec cette approximation, $\nu$ désignant le paramètre défini plus haut :

$$H \sim \left[1 + \frac{2b(2\gamma_M + \gamma_R)}{\gamma_E}\right] F[\nu,\ (b-1)(n^2-n-1)]$$

Cette puissance est souvent faible comme nous allons le voir sur un exemple numérique et des effets réciproques non négligeables risquent fort de n'être pas mis en évidence.

*Exemple de puissance*

Les valeurs retenues pour les paramètres sont : $n = 8 \qquad b = 3$

soit un nombre déjà important de résultats expérimentaux égal à : $bn(n-1) = 168$

Pour les variances, les valeurs retenues correspondent à un caractère d'héritabilité moyenne (0,36 à 0,38) et à des effets réciproques généraux ou spécifiques dont l'ordre de grandeur est moitié de celui des aptitudes générales :

*a*) $\gamma_G = \gamma_E/3 \qquad \gamma_R = \gamma_E/12 \qquad \gamma_S = \gamma_M = 0$

*b*) $\gamma_G = \gamma_E/3 \qquad \gamma_M = \gamma_E/12 \qquad \gamma_S = \gamma_R = 0$

On sait alors que :

$$H \sim \frac{3}{2} F(28,110) \qquad \text{dans le cas } a$$

$$H \sim 2\, F(16,110) \qquad \text{dans le cas } b$$

Si le niveau choisi pour le test est 0,95, la puissance c'est-à-dire la probabilité d'affirmer que les effets réciproques sont non nuls est approximativement :

0,42 dans le cas *a*

0,69 dans le cas *b*

Bien que nous ayons considéré des cas où les effets réciproques ne sont pas négligeables, la probabilité de les déclarer nuls reste assez grande (0,58 ou 0,31 suivant le cas) : dans le premier cas, le risque d'erreur est plus grand que si on s'était contenté de faire un tirage au sort pile ou face pour prendre la décision.

*Remarques*

1) Dans le cas *b*, le modèle classique conduit à prendre pour H une loi F(28,110) et donc à surestimer la puissance : au lieu de 0,69 on trouve en effet, 0,76.

2) Si on s'intéresse davantage aux effets généraux qu'aux effets spécifiques, il est préférable de prendre pour statistique de test :

$$\frac{2bQ_5(Y)}{n} : \frac{Q_1(Y)}{(b-1)(n^2-n-1)} \sim \left(1 + \frac{2b(n\gamma_M + \gamma_R)}{\gamma_E}\right) F[n-1, (b-1)(n^2-n-1)]$$

Avec cette statistique, dans le cas *b*, la puissance pour un test de niveau 0,05 atteint 0,90 au lieu de 0,69 pour le test précédent. Par contre si les effets maternels sont nuls et si les effets réciproques sont non nuls, il y a une perte de puissance due au fait que le nombre de degrés de liberté du numérateur est $n-1$ au lieu de $n(n-1)/2$ (on peut cependant noter que le facteur de F est dans ce cas le même pour les deux statistiques).

3) D'autres dispositifs expérimentaux (voir IV) permettent d'augmenter un peu la puissance du test classique.

## IV. — *Exemples de comparaison de dispositifs expérimentaux*

L'étude précédente permet en particulier de calculer les variances des estimateurs et la puissance des tests. Il est intéressant d'utiliser ces résultats pour comparer entre eux, avant expérience, divers dispositifs possibles. On notera que

les expressions des variances ou de la puissance dépendent des paramètres du modèle et donc qu'il est nécessaire d'avoir des idées *a priori* sur l'ordre de grandeur relatif de ces paramètres pour faire l'étude.

Nous ne considérons ici que des dispositifs très simples qui sont la juxtaposition de plans en blocs complets :

— un dispositif élémentaire comprend $b$ blocs complets, chacun de ces blocs constituant une répétition d'un diallèle complet sans diagonale à $n$ niveaux (c'est le dispositif objet de l'étude précédente);

— le dispositif global est la réunion de $r$ dispositifs élémentaires (éventuellement $r = 1$) ayant tous $b$ blocs et $n$ niveaux, étant entendu que les tirages au sort des $n$ niveaux de chacun des dispositifs élémentaires sont indépendants; il est complètement défini par les entiers, $n$, $b$, $r$ et sera appelé dispositif $(n, b, r)$.

L'intérêt de ces dispositifs est, pour un même nombre total d'observations,

$$t = r\, b\, n\, (n - 1)$$

d'augmenter le nombre des individus de la population étudiée qui sont utilisés dans l'expérience. Par exemple, on fait 264 observations en prenant $b = 2$, $n = 4$, $r = 11$ ou $b = 2$, $n = 12$, $r = 1$ alors que le nombre des individus utilisés est 44 dans le premier cas et 12 dans le second.

Dans la comparaison de ces dispositifs pour diverses valeurs des caractéristiques $b$, $r$, $n$, nous considérerons que la variance expérimentale $\gamma_E$ est indépendante de la taille $n(n - 1)$ des blocs. Si, comme on peut le penser, cette variance diminue avec la taille des blocs, l'intérêt des dispositifs correspondant à de petites valeurs de $n$ est plus grand que nous ne l'indiquons.

*Analyse statistique des dispositifs* (n, b, r)

La somme de deux $\chi^2$ indépendants a une loi de $\chi^2$ et il en est de même pour des aléatoires indépendantes ayant des lois de Wishart. Les statistiques utilisées seront donc les sommes des statistiques associées à chacun des dispositifs élémentaires, statistiques qui ont été étudiées en I.

Si, par abus de langage, nous désignons les statistiques sommes par les mêmes lettres que précédemment, nous pouvons affirmer que :

$$Q_1(Y) \sim \gamma_E\, \chi^2\, [r(b - 1)\,(n^2 - n - 1)]$$

$$Q_2(Y) \sim \left(\gamma_S + \frac{\gamma_E}{2b}\right) \chi^2\, [rn(n - 3)/2]$$

$$Q_3(Y) \sim \left(\gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right) \chi^2\, [r(n - 1)\,(n - 2)/2]$$

$$\{Q_4(Y), Q_5(Y), Q_6(Y)\} \sim W_2\, [r(n - 1),\ \Gamma_1]$$

Chaque statistique dépend des mêmes paramètres que précédemment (en particulier $\Gamma_1$ est la matrice définie en I); mais les nombres de degrés de liberté sont tous multipliés par $r$.

*Étude des effets spécifiques*

Nous ne traiterons ici que les effets réciproques spécifiques; mais les résultats pour les aptitudes spécifiques sont très voisins.

La variance de l'estimateur de $\gamma_R$ :

$$\frac{Q_3(Y)}{r(n-1)(n-2)/2} - \frac{Q_1(Y)}{2rb(b-1)(n^2-n-1)}$$

a pour valeur :

$$v_R = 2\left(\gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right)^2 \frac{1}{r(n-1)(n-2)/2} + 2\left(\frac{\gamma_E}{2b}\right)^2 \frac{1}{r(b-1)(n^2-n-1)}$$

$$= \frac{2}{t}\left[\left(\gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right)^2 2b\frac{n}{n-2} + \left(\frac{\gamma_E}{2b}\right)^2 \frac{b}{b-1}\frac{n^2-n}{n^2-n-1}\right]$$

Le nombre total d'observations $t$ a été mis en facteur pour faciliter la comparaison des dispositifs de taille équivalente.

On reconnaît que le premier terme du crochet est en général prépondérant; en considérant ce terme comme fonction du nombre $b$ de blocs, on voit que le minimum est atteint si $b = \gamma_E/2\gamma_R$.

Par ailleurs le facteur $n/(n-2)$ diminue quand $n$ augmente; on a donc intérêt à prendre $r = 1$ et à donner à $b$ une valeur plutôt inférieure à $\gamma_E/2\gamma_R$ puisque $n$ augmente quand $b$ diminue.

*Exemple numérique*

$$\gamma_R = \gamma_E/12 \quad \text{d'où} \quad \gamma_E/2\gamma_R = 6$$

$$t \text{ voisin de } 270$$

| $n$ | $b$ | $r$ | $t$ | $v_R/\gamma^2_R$ | $(v_R/\gamma^2_R) \times (t/280)$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 12 | 2 | 1 | 264 | 0,718 | 0,678 |
| 10 | 3 | 1 | 270 | 0,544 | 0,524 |
| 9 | 4 | 1 | 288 | 0,466 | 0,479 |
| 8 | 5 | 1 | 280 | 0,474 | 0,474 |
| 7 | 6 | 1 | 252 | 0,543 | 0,489 |
| 6 | 9 | 1 | 270 | 0,560 | 0,540 |
| 6 | 4 | 2 | 240 | 0,651 | 0,558 |
| 6 | 2 | 4 | 240 | 0,954 | 0,818 |

La dernière colonne est un indice de précision du plan ramené artificiellement à une taille de 280 (on considère que la variance est proportionnelle à $1/t$, toutes choses égales par ailleurs).

On notera que les dispositifs pour lesquels $r = 1$ et $b = 4$, 5 ou 6 sont optimaux et qu'on peut sans perdre trop de précision prendre $b = 3$ ou $b = 9$. Ces résultats confirment que l'optimum de $b$ correspond à une valeur un peu inférieure à $\gamma_E/2\gamma_R$.

La stabilité de la précision quand $b$ varie de 3 à 9 permet de penser qu'une erreur d'appréciation assez importante sur le rapport $\gamma_E/\gamma_R$ n'a pas de conséquences très graves sur le choix du dispositif (si on avait estimé que $\gamma_E/\gamma_R$ était égal à 6 au lieu de 12, on aurait pris sans doute $b = 3$).

*Test des effets réciproques*

Nous ne discuterons pas le test des effets spécifiques : les dispositifs satisfaisants sont analogues à ceux indiqués pour l'estimation; on peut prendre par exemple le dispositif (8, 5, 1).

Nous allons simplement montrer que la puissance du test classique des effets réciproques peut être améliorée de manière assez importante en reprenant l'exemple de III et en comparant les valeurs de la puissance du dispositif (8, 3, 1) considéré en III et du dispositif (6, 6, 1) qui a sensiblement la même taille (180 observations au lieu de 168) :

— dans le cas $a$ ($\gamma_R = \gamma_E/12$, $\gamma_M = 0$), la puissance est :

0,42 pour (8, 3, 1) 0,59 pour (6, 6, 1)

— dans le cas $b$ ($\gamma_R = 0$, $\gamma_M = \gamma_E/12$), la puissance est :

0,69 pour (8, 3, 1) 0,80 pour (6, 6, 1)

Sans atteindre encore une valeur satisfaisante, surtout dans le cas $a$, la puissance a beaucoup augmenté grâce au choix d'un dispositif approprié.

*Étude des effets généraux*

Nous traiterons le cas des aptitudes générales; mais les résultats s'étendent sans grande modification aux effets réciproques généraux.

La variance de l'estimateur de $\gamma_G$ :

$$\frac{Q_4(Y)}{r(n-1)(n-2)^2} - \frac{Q_2(Y)}{rn(n-2)(n-3)/2}$$

a pour valeur :

$$v_G = 2\gamma_G^2 \left\{ \left[1 + \frac{\gamma_S + (\gamma_E/2b)}{(n-2)\gamma_G}\right]^2 \frac{1}{r(n-1)} + \left[\frac{\gamma_S + (\gamma_E/2b)}{(n-2)\gamma_G}\right]^2 \frac{1}{rn(n-3)/2} \right\}$$

Une étude analogue à celle faite pour les effets spécifiques montre qu'on a intérêt à prendre une faible valeur de $b$ (en général 2) et de petites valeurs de $n$ (de 4 à 6) ce qui permet d'avoir de nombreuses répétitions.

*Exemple numérique*

$$\gamma_G = \gamma_E/3 \qquad \gamma_S = \gamma_E/12$$

$$t \text{ voisin de } 240$$

| $n$ | $b$ | $r$ | $t$ | $v_G/\gamma^2_G$ | $(v_G/\gamma^2_G) \times t/240)$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 4 | 2 | 10 | 240 | 0,175 | 0,175 |
| 5 | 2 | 6 | 240 | 0,155 | 0,155 |
| 6 | 2 | 4 | 240 | 0,160 | 0,160 |
| 12 | 2 | 1 | 264 | 0,220 | 0,242 |
| 6 | 4 | 2 | 240 | 0,270 | 0,270 |

La précision est optimale quand le nombre d'individus utilisés $nr$ est grand, ce qui est assez intuitif : pour estimer correctement la variance d'une aptitude générale, il faut que le nombre des aléatoires étudiées, c'est-à-dire des individus utilisés soit assez grand.

Des résultats analogues peuvent être obtenus dans l'étude de la puissance du test de l'hypothèse $\gamma_G = 0$ contre $\gamma_G \neq 0$.

*Étude de la corrélation entre G et M*

Les dispositifs optimaux pour l'étude de la covariance sont approximativement les mêmes que pour l'étude des effets généraux : il s'agit toujours de composantes d'une même loi multidimensionnelle, la loi de Wishart $W_2(n - 1, \Gamma_1)$; ces dispositifs sont donc *a priori* satisfaisants pour l'étude de la corrélation.

Une étude rapide mais très approximative permet de confirmer cette affirmation :

— la variance de l'estimateur de la transformée de Fisher :

$$\frac{1}{2} \ln \frac{1 + \rho}{1 - \rho}$$

est approximativement

$$[r(n - 1) - 2]^{-1}$$

— pour des valeurs de $\rho$ pas trop éloignées de 0, la transformée de Fisher diffère peu de $\rho$;

— enfin la corrélation $\rho_{GM}$ de G et M est proportionnelle à $\rho$ :

$$\rho_{GM} = \rho \left[1 + \frac{\gamma_S + (\gamma_E/2b)}{(n-2)\gamma_G}\right]^{1/2} \quad \left[1 + \frac{\gamma_R + (\gamma_E/2b)}{n\gamma_M}\right]^{1/2}$$

— un ordre de grandeur de la variance de l'estimateur de $\rho_{GM}$ sera donc donné par

$$w = [r(n-1)-2]^{-1}\left[1+\frac{\gamma_S+(\gamma_E/2b)}{(n-2)\gamma_G}\right]\left[1+\frac{\gamma_R+(\gamma_E/2b)}{n\gamma_M}\right]$$

*Exemple numérique*

$$\gamma_G=\gamma_M=\gamma_E/3 \qquad \gamma_S=\gamma_R=\gamma_E/12$$

$t$ voisin de 240

| $n$ | $b$ | $r$ | $t$ | $w$ | $wx(t/240)$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 4 | 2 | 10 | 240 | 0,066 | 0,062 |
| 5 | 2 | 6 | 240 | 0,072 | 0,072 |
| 6 | 2 | 4 | 240 | 0,080 | 0,080 |
| 12 | 2 | 1 | 264 | 0,132 | 0,145 |
| 6 | 4 | 2 | 240 | 0,162 | 0,162 |

*Remarques importantes*

1) La précision sur la corrélation $\rho_{GM}$ est faible. Avec 240 observations, l'écart type est au moins 0,25, ce qui est énorme pour un coefficient compris entre — 1 et 1.

Pour avoir des résultats sur l'ordre de grandeur de $\rho_{GM}$ il faut donc prévoir des expériences de grande taille, ou, plutôt regrouper les résultats de plusieurs expériences analogues.

2) Dans un premier temps, on se contentera souvent d'un test. Par exemple, si pour l'opération envisagée (sélection de géniteurs ou de lignées ayant une bonne valeur productrice), une corrélation négative entre G et M est gênante, on fera le test de l'hypothèse $\rho_{GM} \geqslant 0$ contre $\rho_{GM} < 0$, ce qui permettra au moins de mettre en évidence les cas où il y a une forte corrélation négative.

La puissance du test est malheureusement faible. Par exemple, reprenons comme dans l'étude numérique précédente pour $\gamma_G$ et $\gamma_M$ la valeur $\gamma_E/3$.

Si le nombre d'observations est de 400 environ; il faut, pour obtenir une puissance de 80 p. 100, que $\rho_{GM}$ atteigne environ — 0,4 si le niveau du test est de 10 p. 100 et — 0,5 si le niveau du test est de 5 p. 100. Conserver l'hypothèse nulle signifie donc seulement que, si la corrélation $\rho_{GM}$ est négative, sa valeur absolue n'est pas très grande.

3) Dans les exemples traités, nous avons donné à $\gamma_G$ et $\gamma_M$ des valeurs relativement grandes; la précision diminuerait encore si $\gamma_M$ était plus petit, de l'ordre de $\gamma_E/12$ par exemple. Mais dans ce cas la variabilité de M est nettement plus faible que celle de G et donc la liaison entre G et M a moins d'effet sur le résultat d'une sélection par exemple.

## Conclusion

Dans un diallèle effectué à partir d'un échantillon tiré au sort avec équiprobabilité dans une population $\mathcal{P}$ infinie, les observations $Y_{ij,k}$ sont corrélées et la structure de la matrice des corrélations est décrite par la loi conjointe des effets et erreurs aléatoires.

1) Parmi les modèles évoqués (notés 1, 2, 3 dans l'article), le plus intéressant est le modèle 2 qui, pour un dispositif en blocs complets, s'écrit :

$$Y_{ij,k} = \mu + G_i + G_j + M_i - M_j + S_{ij} + R_{ij} + E_{ij,k}$$
$$S_{ij} - S_{ji} = 0 \qquad R_{ij} + R_{ji} = 0$$

Les corrélations entre les effets et erreurs aléatoires sont nulles à l'exception de :

$$\rho_{GM} = \rho(G_i, M_i)$$

et dans certains cas :

$$\tau = \rho(E_{ij,k}, E_{ji,k})$$

2) L'étude des variances des aléatoires du modèle 2 conduit à l'analyse classique des sommes et différences :

$$Y_{ij,k} + Y_{ji,k} \qquad Y_{ij,k} - Y_{ji,k}$$

3) La corrélation $\rho_{GM}$ peut avoir des conséquences importantes sur le résultat d'une sélection par exemple et son étude, bien que souvent imprécise, ne doit pas être négligée.

4) Les différences signalées avec certaines pratiques courantes (étude globale des effets réciproques dans le modèle 3 par exemple) n'existent que pour les problèmes d'estimation et le calcul de la puissance des tests. Sous l'hypothèse nulle, ces différences disparaissent puisque les seules aléatoires non nulles sont alors les erreurs $E_{ij,k}$.

5) L'étude des variances des estimateurs et de la puissance des tests permet de choisir entre divers dispositifs expérimentaux comme nous l'avons montré sur des exemples. Mais les dispositifs adaptés à l'étude des effets spécifiques sont souvent peu satisfaisants pour l'étude des effets généraux. Le choix d'un dispositif nécessite donc la définition préalable des objectifs prioritaires de l'étude.

*Reçu pour publication en mars 1976.*

## Summary

*Remarks on modelisation and analysis of diallel designs*

The first part justifies the modelisation of a diallel design in the case of random effects. The second part presents the statistical analysis of this model and includes in particular the study of the correlation between the general abilities and the general reciprocal effects; the results are used to discuss the power of the tests and compare simple experimental designs.

## Références bibliographiques

COCKERAM C. C., 1963. Estimation of genetic variances. in *Statistical genetics and plant Breeding*. HANSON W. D., ROBINSON H. F. (Ed.) Nat. Acad. Sci. - Nat. Res. Council Publ. 982, p. 53-94.

GALLAIS A., 1970. Modèle pour l'analyse des relations d'associations binaires. *Biométrie - Praximétrie*, **11** (2-3), 51-80.

GRIFFING B., 1956. Generalized treatment of the use of diallel crosses in quantitative inheritance. *Heredity*, **10**, 31-50.

GRIFFING B., 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Austr. J. biol. Sci.*, **9**, 463-493.

GRIFFING B., 1958. Application of sampling variables in the identification of methods which yield unbiased estimates of genotypic variance components. *Austr. J. biol. Sci.*, **11**, 219-245.

HAYMAN B. I., 1954. The theory and analysis of diallel crosses. *Genetics*, **39**, 789-809.

HAYMAN B. I., 1954. The analysis of variance of diallel tables. *Biometrics*, **10**, 235-244.

HAYMAN B. I., 1958. The theory and analysis of diallel crosses II. *Genetics*, **43**, 63-85.

HAYMAN B. I., 1960. The theory and analysis of diallel crosses III. *Genetics*, **45**, 155-172.

KEMPTHORNE O., 1952. *Design and analysis of experiments*. p. 115, John Wiley, New-York.

KEMPTHORNE O., 1956. The theory of diallel crosses. *Genetics*, **41**, 451-459.

SCHEFFÉ H., 1959. *Analysis of variance*. John Wiley, New-York.

WAERDEN S., 1964. Alternative analysis of diallel crosses. *Heredity*, **19**, 669-680.

YATES F., 1947. Analysis of data from all possible reciprocal crosses between a set of parental lines. *Heredity*, **1**, 287-301.

## Annexe 1

*Dispositif diallèle avec erreurs corrélées*

Si les deux aléatoires $E_{ij,k}$ et $E_{ji,k}$ ont une corrélation non nulle $\tau$, les aléatoires définies si $i < j$ par :

$$\tilde{E}_{ij,k} = \frac{1}{2}(E_{ij,k} + E_{ji,k}) \qquad \ddot{E}_{ij,k} = \frac{1}{2}(E_{ij,k} - E_{ji,k})$$

sont indépendantes et ont des variances :

$$\frac{1}{2}\gamma_{E1} = \frac{1}{2}\gamma_E(1+\tau) \qquad \frac{1}{2}\gamma_{E2} = \frac{1}{2}\gamma_E(1-\tau)$$

Ce résultat implique que dans l'étude du I de la deuxième partie :

| | | |
|---|---|---|
| $\gamma_S + (\gamma_E/2b)$ | devient | $\gamma_S + (\gamma_{E1}/2b)$ |
| $\gamma_R + (\gamma_E/2b)$ | devient | $\gamma_R + (\gamma_{E2}/2b)$ |

Les autres modifications à apporter à cette étude sont les suivants :

1) La forme quadratique $Q_1(Y)$ est remplacée par les deux formes indépendantes de somme égale à $Q_1(Y)$ :

$$Q_{11}(Y) = \sum_{i \neq j, k} \left( \frac{Y_{ij,k} + Y_{ji,k}}{2} - \frac{Y_{ij,\cdot} + Y_{ji,\cdot}}{2} - Y_{\cdot\cdot,k} + Y_{\cdot\cdot,\cdot} \right)^2$$

$$\sim \gamma_{E1} \chi^2 \left[ (b - 1)(n^2 - n - 2)/2 \right]$$

$$Q_{12}(Y) = \sum_{i \neq j, k} \left( \frac{Y_{ij,k} - Y_{ji,k}}{2} - \frac{Y_{ij,\cdot} - Y_{ji,\cdot}}{2} \right)^2 \sim \gamma_{E2} \chi^2 \left[ (b - 1)\, n(n - 1)/2 \right]$$

2) Les estimateurs de $\gamma_{E1}$, $\gamma_{E2}$, $\gamma_S$, $\gamma_R$ sont :

| Paramètre | Estimateur sans biais |
|---|---|
| $\gamma_{E1}$ | $\dfrac{Q_{11}(Y)}{(b-1)(n^2-n-2)/2}$ |
| $\gamma_{E2}$ | $\dfrac{Q_{12}(Y)}{(b-1)n(n-1)/2}$ |
| $\gamma_S$ | $\dfrac{Q_2(Y)}{n(n-3)/2} - \dfrac{Q_{11}(Y)}{2b(b-1)(n^2-n-2)/2}$ |
| $\gamma_R$ | $\dfrac{Q_3(Y)}{(n-1)(n-2)/2} - \dfrac{Q_{12}(Y)}{2b(b-1)n(n-1)/2}$ |

3) L'étude des rapports $\gamma_S/\gamma_{E1}$ et $\gamma_R/\gamma_{E2}$ utilise les statistiques :

$$\frac{Q_2(Y)}{n(n-3)/2} : \frac{Q_{11}(Y)}{(b-1)(n^2-n-2)/2} \sim \left[ \frac{\gamma_S}{\gamma_{E1}} + \frac{1}{2b} \right] F[n(n-3)/2,\ (b-1)(n^2-n-2/2)]$$

$$\frac{Q_3(Y)}{(n-1)(n-2)/2} : \frac{Q_{12}(Y)}{(b-1)\,n(n-1)/2} \sim \left[ \frac{\gamma_R}{\gamma_{E2}} + \frac{1}{2b} \right] F[(n-1)(n-2)/2,\ (b-1)\,n(n-1)/2]$$

L'optimalité des estimateurs subsiste.

Dans l'étude des effets réciproques faite en III, on remplace :

$Q_1(Y)$ par $Q_{12}(Y)$
$(b - 1)(n^2 - n - 1)$ par $(b - 1)n(n - 1)/2$

## Annexe 2

*Démonstration des principaux résultats*

### I. — *Définition de quatre ensembles indépendants d'aléatoires*

Nous allons utiliser des combinaisons linéaires simples des aléatoires $Y_{ij,k}$ formant un système de générateurs de l'ensemble des formes linéaires en Y; l'étude de ces combinaisons linéaires est donc équivalente à celle des $Y_{ij,k}$.

1. *Ensemble* ($\mathcal{E}$)

Les éléments de cet ensemble sont les $bn(n-1)$ aléatoires :

$$Y_{ij,k} - Y_{ij,.} = \mathcal{J}_k + E_{ij,k} - E_{ij,.}$$

L'ensemble ($\mathcal{E}$) est non corrélé avec l'ensemble ($\bar{\mathcal{E}}$) des moyennes $Y_{ij}$ et donc avec les ensembles suivants dont les éléments sont des fonctions des moyennes $Y_{ij}$.

2. *Ensembles* ($\mathcal{S}$) *et* ($\mathcal{R}$)

Les éléments de l'ensemble ($\mathcal{S}$) sont les estimateurs $C_{ij}$ des paramètres $s_{ij}$ dans le modèle à effets fixes :

$$C_{ij} = \frac{Y_{ij} + Y_{ji}}{2} - \frac{Y_{i+} + Y_{+i}}{2(n-2)} - \frac{Y_{j+} + Y_{+j}}{2(n-2)} + \frac{Y_{++}}{(n-1)(n-2)}$$

$$= \tilde{S}_{ij} - \frac{\tilde{S}_{i+} + \tilde{S}_{j+}}{n-2} + \frac{\tilde{S}_{++}}{(n-1)(n-2)}$$

en posant :

$$\tilde{S}_{ij} = S_{ij} + \frac{E_{ij.} + E_{ji.}}{2}$$

Les éléments de l'ensemble ($\mathcal{R}$) sont les estimateurs $D_{ij}$ des paramètres $r_{ij}$ dans le modèle à effets fixes :

$$D_{ij} = \frac{Y_{ij} - Y_{ji}}{2} - \frac{Y_{i+} - Y_{+i}}{2n} + \frac{Y_{j+} - Y_{+j}}{2n}$$

$$= \tilde{R}_{ij} - \frac{\tilde{R}_{i+}}{n} + \frac{\tilde{R}_{j+}}{n}$$

en posant :

$$\tilde{R}_{ij} = R_{ij} + \frac{E_{ij.} - E_{ji.}}{2}$$

3. *Ensemble* ($\mathcal{G}$)

Pour obtenir un système de formes linéaires des $Y_{ij}$ de rang $n(n-1)$, il suffit d'ajouter aux éléments $C_{ij}$ et $D_{ij}$ des ensembles ($\mathcal{S}$) et ($\mathcal{R}$) les sommes $Y_{i+}$ et $Y_{+i}$ ($i = 1, 2, \ldots, n$) ou des combinaisons linéaires équivalentes.

Les éléments de l'ensemble $(\mathcal{G})$ sont donc les $2n$ aléatoires

$$\frac{Y_{i+} + Y_{+i}}{2} = \mu + (n-2)G_i + G_+ + \tilde{S}_{i+} \qquad (i = 1, \ldots, n)$$

$$\frac{Y_{i+} - Y_{+i}}{2} = nM_i - M_+ + \tilde{R}_{i+} \qquad (i = 1, \ldots, n)$$

4. *Conséquences des définitions précédentes*

Les éléments de $(\mathcal{S})$ sont deux à deux égaux et ceux de $(\mathcal{R})$ deux à deux opposés:

$$C_{ij} - C_{ji} = 0 \qquad D_{ij} + D_{ji} = 0$$

Les ensembles $(\mathcal{E})$, $(\mathcal{S})$, $(\mathcal{R})$, $(\mathcal{G})$ sont non corrélés et donc, sous hypothèse de normalité indépendants :

— pour $(\mathcal{S})$, $(\mathcal{R})$ et $(\mathcal{G})$, on vérifie aisément que :

$$\text{cov}\,(C_{ij}, D_{pq}) = \text{cov}\,(\tilde{S}_{ij}, \tilde{R}_{pq}) = 0$$

$$\text{cov}\left(C_{ij}, \frac{Y_{p+} + Y_{+p}}{2}\right) = \text{cov}\left(\tilde{S}_{ij} - \frac{\tilde{S}_{i+} + \tilde{S}_{j+}}{n-2} + \frac{\tilde{S}_{++}}{(n-1)(n-2)}, \tilde{S}_{p+}\right) = 0$$

$$\text{cov}\left(D_{ij}, \frac{Y_{p+} - Y_{+p}}{2}\right) = \text{cov}\left(\tilde{R}_{ij} - \frac{\tilde{R}_{i+}}{n} + \frac{\tilde{R}_{j+}}{n}, \tilde{R}_{p+}\right) = 0$$

$$\text{cov}\left(C_{ij}, \frac{Y_{p+} - Y_{+p}}{2}\right) = \text{cov}\left(D_{ij}, \frac{Y_{p+} + Y_{+p}}{2}\right) = 0$$

— les éléments de $(\mathcal{S})$, $(\mathcal{R})$, $(\mathcal{G})$ combinaisons linéaires des éléments de $(\bar{\mathcal{E}})$ sont non corrélés avec $(\mathcal{E})$.

L'étude séparée des ensembles $(\mathcal{E})$, $(\mathcal{S})$, $(\mathcal{R})$, $(\mathcal{G})$ est donc justifiée.

II. — *Lois des formes quadratiques $Q_p(Y)$*

*Loi de $Q_1(Y)$*

Les aléatoires de l'ensemble $(\mathcal{E})$ :

$$Y_{ij,k} - Y_{ij,\cdot} = \mathcal{J}_k + E_{ij,k} - E_{ij,\cdot}$$

ont même loi que dans le modèle d'analyse de variance à effets fixes :

$$Y_{ij,k} = \mu_{ij} + \mathcal{J}_k + E_{ij,k}$$

On sait que dans ce cas :

$$Q_1(Y) = \sum_{i \neq j,\, k} (Y_{ij,k} - Y_{ij,\cdot} - Y_{\cdot\cdot,k} + Y_{\cdot\cdot,\cdot})^2 \sim \gamma_E \chi^2\,[(b-1)(n^2-n-1)]$$

*Lois de $Q_2(Y)$ et $Q_3(Y)$*

Les aléatoires $C_{ij}$ de l'ensemble $(\mathcal{S})$ sont des combinaisons linéaires des $n(n-1)/2$ aléatoires $\tilde{S}_{ij}$ indépendantes, centrées, de variance :

$$\gamma_S + (\gamma_E/2b)$$

Les $n$ équations :

$$\sum_{\substack{j=1\\ j\neq i}}^{n}\left[\tilde{S}_{ij}-\frac{\tilde{S}_{i+}+\tilde{S}_{j+}}{n-2}+\frac{\tilde{S}_{++}}{(n-1)(n-2)}\right]=0 \quad i=1,2,\ldots,n$$

impliquent l'identité :

$$2\sum_{i<j}\tilde{S}^2_{ij}=\sum_{i\neq j}\tilde{S}^2_{ij}=\sum_{i\neq j}\left[\tilde{S}_{ij}-\frac{\tilde{S}_{i+}+\tilde{S}_{j+}}{n-2}+\frac{\tilde{S}_{++}}{(n-1)(n-2)}\right]^2 + \sum_{i\neq j}\left[\frac{\tilde{S}_{i+}+\tilde{S}_{j+}}{n-2}-\frac{\tilde{S}_{++}}{(n-1)(n-2)}\right]^2$$

où les deux sommes du second membre sont des formes quadratiques dont les rangs sont complémentaires et égaux à :

$n$ pour la seconde

$n(n-1)/2-n=n(n-3)/2$ pour la première

(les aléatoires figurant dans la seconde somme engendrent le même sous-espace vectoriel que les $S_{p+}$ qui sont algébriquement indépendantes).

Le théorème de COCHRAN s'applique donc et :

$$Q_2(Y)=\sum_{i<j}C^2_{ij}=\frac{1}{2}\sum_{i\neq j}\left[\tilde{S}_{ij}-\frac{\tilde{S}_{i+}+\tilde{S}_{j+}}{n-2}+\frac{\tilde{S}_{++}}{(n-1)(n-2)}\right]^2 \sim\left(\gamma_S+\frac{\gamma_E}{2b}\right)\chi^2[n(n-3)/2]$$

La démonstration est analogue pour $Q_3(Y)$; on utilise les relations :

$$\sum_{\substack{j=1\\ i\neq j}}^{n}\left(\tilde{R}_{ij}-\frac{\tilde{R}_{i+}}{n}+\frac{\tilde{R}_{j+}}{n}\right)=0 \quad i=1,2,\ldots,n$$

et on remarque que les $R_{i+}$ ont une somme nulle et forment un système de rang $n-1$, ce qui conduit au nombre de degrés de liberté

$$n(n-1)/2-(n-1)=(n-1)(n-2)/2$$

*Loi conjointe de $Q_4(Y)$, $Q_5(Y)$, $Q_6(Y)$*

Nous utiliserons la matrice aléatoire :

$$Z_i=\begin{bmatrix}(Y_{i+}+Y_{+i})/2\\(Y_{i+}-Y_{+i})/2\end{bmatrix}$$

et noterons $Z_i^c$ l'aléatoire centrée $Z_i-E(Z_i)$.

La matrice des variances-covariances des aléatoires $(Y_{1+}+Y_{+1})/2$, $(Y_{1+}-Y_{+1})/2,\ldots,(Y_{n+}+Y_{+n})/2$, $(Y_{n+}-Y_{+n})/2$ s'écrit :

$$I\otimes\Gamma_1+J\otimes\Gamma_2=\begin{bmatrix}\Gamma_1 & & 0\\ & \ddots & \\ 0 & & \Gamma_1\end{bmatrix}+\begin{bmatrix}\Gamma_2\ldots\Gamma_2\\ \\ \Gamma_2\ldots\Gamma_2\end{bmatrix}$$

où les matrices $\Gamma_1$ et $\Gamma_2$ sont définies par :

$\Gamma_1 + \Gamma_2 = E(Z^c{}_i\, Z^c{}_i) =$

$$\begin{bmatrix} [(n-2)^2 + (3n-4)]\gamma_G + (n-1)\left(\gamma_S + \frac{\gamma_E}{2b}\right) & (n-1)(n-2)\gamma_{GM} \\ (n-1)(n-2)\gamma_{GM} & (n^2-n)\,\gamma_M + (n-1)\left(\gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right) \end{bmatrix}$$

$\Gamma_2 = E(Z^c{}_i Z^c{}_j) =$

$$\begin{bmatrix} (3n-4)\,\gamma_G + \left(\gamma_S + \frac{\gamma_E}{2b}\right) & -(n-2)\gamma_{GM} \\ -(n-2)\,\gamma_{GM} & -n\gamma_M - \left(\gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right) \end{bmatrix}$$

ce qui implique :

$$\Gamma_1 = \begin{bmatrix} (n-2)\left[(n-2)\,\gamma_G + \gamma_S + \frac{\gamma_E}{2b}\right] & n(n-2)\,\gamma_{GM} \\ n(n-2)\,\gamma_{GM} & n\left[n\gamma_M + \gamma_R + \frac{\gamma_E}{2b}\right] \end{bmatrix}$$

La covariance de deux contrastes matriciels $\Sigma\, c_i\, Z_i$ et $\Sigma\, d_i\, Z_i$ (où $\Sigma\, c_i = \Sigma\, d_i = 0$) est la matrice

$$\left(\sum_i c_i\, d_i\right)\, \Gamma_1$$

La loi conjointe d'un ensemble de contrastes ne dépend donc pas de $\Gamma_2$ et peut être déterminée en annulant $\Gamma_2$ c'est-à-dire en supposant que les aléatoires matricielles $Z_i$ sont indépendantes de variance $\Gamma_1$. On sait que dans ce cas, les termes de la matrice :

$\sum_i \left(Z_i - Z.\right)\left(Z_i - Z.\right)' =$

$$\begin{bmatrix} \sum_i \left(\frac{Y_{i+} + Y_{+i}}{2} - \frac{Y_{++}}{n}\right)^2 & \sum_i \left(\frac{Y_{i+} + Y_{+i}}{2} - \frac{Y_{++}}{n}\right)\left(\frac{Y_{i+} - Y_{+i}}{2}\right) \\ \sum_i \left(\frac{Y_{i+} + Y_{+i}}{2} - \frac{Y_{++}}{n}\right)^2 \left(\frac{Y_{i+} - Y_{+i}}{2}\right) & \sum_i \left(\frac{Y_{i+} - Y_{+})}{2}\right)^2 \end{bmatrix}$$

c'est-à-dire les formes quadratiques $Q_4(Y)$, $Q_5(Y)$, $Q_6(Y)$ ont la loi de Wishart $W_2(n-1,\ \Gamma_1)$.

## III. — *Optimalité des estimateurs utilisés*

Le calcul de la densité conjointe des aléatoires $Y_{ij,k}$ ne présente pas de difficultés : on peut utiliser les propriétés de l'algèbre engendrées par les matrices des variances covariances des aléatoires $Y_{ij,k}$ ou remplacer les aléatoires par des combinaisons linéaires choisies de manière à constituer des bases de $(\mathcal{E})$, $(\mathcal{S})$, $(\mathfrak{R})$ et $(\mathcal{G})$. On montre ainsi que cette densité est fonction des formes quadratiques $Q_p(Y)$ où $p = 1, \ldots, 6$ et des moyennes des blocs $Y_{..,k}$, ce qui justifie le fait que ces statistiques sont exhaustives. L'expression obtenue pour la densité et les propriétés classiques des familles exponentielles permettent d'établir que ces statistiques forment une famille complète.

---

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (2), 203-209.

# La stérilité mâle cytoplasmique chez *Vicia faba* L. I. — Historique et hypothèses

H. THIELLEMENT

*Laboratoire d'Amélioration des Plantes, Université de Paris-Sud-Orsay, Bât. 360, 91405 Orsay Cédex*

## Résumé

Les particularités de la stérilité mâle cytoplasmique de la Féverole (et du Mil) peuvent être rapprochées des phénomènes cytoplasmiques observés dans les genres *Drosophila* et *Paramecium*. Une interprétation en termes d'équilibre entre 2 types de cytoplasmones est proposée. Parmi les hypothèses de travail avancées, le génotype du mainteneur, la transmission par le pollen et l'hétérogénéité de la lignée femelle, l'accent est mis sur la variabilité cytoplasmique probable de la lignée mâle-stérile. On peut, de ce fait, envisager une sélection de type somatique ou maternelle pour aboutir à un cytoplasme stable.

## I. — Historique

### 1. — *Introduction*

L'exploitation du potentiel agronomique de la Féverole (*Vicia faba* L.) ne peut se réaliser qu'à travers l'utilisation de l'hétérosis.

La stérilité mâle cytoplasmique découverte chez cette espèce par Bond (1966) rendait possible l'obtention en quantité commercialisable de semences hybrides de première génération. Malheureusement cette source d'andro-stérilité, comme d'ailleurs la seconde trouvée par Berthelem quelques années plus tard, s'est révélée inutilisable en sélection à cause de son « instabilité ».

Les cas d'« instabilité » de la stérilité mâle cytoplasmique, c'est-à-dire l'apparition de plantes ou de secteurs de phénotype fertiles dans la descendance du croisement mâle-stérile par mainteneur ont été signalés chez un certain nombre d'espèces d'intérêt agronomique. Outre la Féverole, on peut citer le Mil pénicillaire

(Sequier, 1971; Clement, 1975), le Maïs sur cytoplasme U.S.D.A. (Singh et Laughnan, 1972) et récemment le Tournesol (Leclercq; Vear).

Chez le Maïs et chez le Tournesol, on a pu montrer qu'une partie au moins des plantes fertiles observées, alors que l'on attend une descendance entièrement stérile, résulte de l'apparition d'un gène de restauration (chez le Maïs, mutation $rf_3 \rightarrow Rf_3$, Laughnan et Gabay, 1975).

Par contre, chez le Mil et la Féverole, les plantes ou les secteurs fertiles constatés se comportent comme des mainteneurs de stérilité. Dans ce cas le changement de phénotype de stérile vers fertile pourrait résulter d'une modification cytoplasmique.

## 2. — *Particularités*

Chez la Féverole, comme d'ailleurs chez le Mil (*Pennisetum typhoides*), on connaît au moins deux constitutions cytoplasmiques conférant la stérilité mâle (on les distingue par les gènes de restauration de la fertilité). Ils se comportent de la même façon :

1) le taux de retour à la fertilité varie selon le génotype du mainteneur (Berthelem, 1970; Picard (J.), 1972, sur la Féverole; Clement, 1975, sur le Mil);

2) le retour à la fertilité peut avoir lieu au sein d'une plante stérile (Bond *et al.*, 1966);

3) chez la Féverole, la stérilité mâle cytoplasmique présente une autre particularité : la restauration permanente. La $F_1$ du croisement mâle-stérile par restaurateur, autofécondée, ne donne que des plantes fertiles alors que l'on attend environ un quart de stériles (1 gène majeur de restauration). Dans cette descendance fertile on retrouve des mainteneurs, ce qui différencie cette restauration permanente d'une restauration gamétophytique (cytoplasme U.S.D.A. du Maïs). Dans ce cas tout se passe comme si le cytoplasme stérile, une fois mis au contact avec le (s) gène (s) de restauration, était redevenu fertile.

## 3. — *Interprétations*

Clement (1975) qui étudie la stérilité mâle cytoplasmique du Mil, interprète ces phénomènes d'instabilité phénotypique en termes de mutations de cytoplasmones (génomes cytoplasmiques). Le taux de mutation variable selon le génotype résulterait de l'existence d'un gène mutateur à pénétrance variable. C'est-à-dire que ce gène, qui provoque la mutation du cytoplasme de stérile vers fertile, s'exprimerait différentiellement selon le contexte génétique.

On pourrait interpréter ces phénomènes en termes de modifications d'équilibres cytoplasmiques.

Considérons l'hypothèse du support mitochondrial de la stérilité mâle cytoplasmique, émise pour la première fois par Rhoades (1943) puis reprise et développée notamment par Bervillé et Demarly (1970). Cette hypothèse a été récemment confortée par la mise en évidence par Levings et Pring (1976) de différences

dans la structure du D.N.A. mitochondrial entre Maïs de cytoplasme normal et Texas (mâle-stérile). En reprenant les idées de DEMARLY (1974), sur la pluralité des populations mitochondriales, on peut concevoir qu'au sein des plantes mâle-stériles instables, coexistent deux types d'organites. Nous appelerons « compatible » le type conduisant à la viabilité du pollen et « incompatible » le type conduisant à la stérilité mâle. Les plantes mâle-stériles instables sont alors des plantes où, si en général le type « incompatible » prédomine, il arrive qu'au cours des mitoses une ségrégation somatique occasionne une nouvelle répartition des deux types. Et les cellules filles qui vont être à l'origine d'un rameau ou d'un secteur de la plante seront constituées par le type « compatible ». Ceci permet de rendre compte également des plantes ou rameaux de phénotype intermédiaire, semi-fertiles ou semi-stériles.

En considérant l'hypothèse du support viral de la stérilité mâle cytoplasmique (ATANASOFF, 1971), on pourrait concevoir de la même façon une ségrégation de particules virales entraînant l'apparition de secteurs guéris. Il faudrait alors admettre d'une part qu'il peut y avoir guérison spontanée au sein d'une plante et que, d'autre part, le virus ne peut plus réinvestir les secteurs guéris (irréversibilité du phénomène) ni se transmettre par greffe (BOND *et al.*, 1966).

Récemment, EDWARDSON *et al.*, (1976) ont mis en évidence dans les cellules des plantes et des talles stériles de Féverole, des corps sphériques cytoplasmiques (C.S.B. : Cytoplasmic Spherical Bodies) d'apparence virale. Les auteurs eux-mêmes ne peuvent affirmer s'il s'agit là des agents viraux, causes de la stérilité mâle, ou d'une conséquence d'un état cytoplasmique particulier.

## II. — Analogies

Chez *Drosophila melanogaster*, PICARD G. (1971) a mis en évidence un cas de stérilité femelle à déterminisme cytoplasmique. Ce phénomène, apparu au cours de croisements entre souches, dépend à la fois de facteurs cytoplasmiques (facteurs « Réacteur ») et de facteurs liés au génome nucléaire (facteurs « Inducteur »). Outre la ressemblance avec la stérilité mâle cytoplasmique chez les végétaux, l'étude a montré (BUCHETON et PICARD G., 1975) que les modifications induites par le vieillissement (les femelles âgées sont plus fertiles) se maintiennent, bien qu'en s'atténuant, au cours des générations. On peut penser, en reprenant l'hypothèse des auteurs (BUCHETON, 1973), qu'il y a eu une sorte de dérive au sein de populations de particules cytoplasmiques.

Chez *Paramecium aurelia*, si l'on injecte dans une souche sauvage des mitochondries porteuses de mutations, par exemple de résistance au chloramphénicol ou à l'érythromycine, ces dernières vont progressivement être éliminées (ADOUTTE et BEISSON, 1972). Inversement, des mitochondries sauvages au contact d'un génome d'un type donné (porteur de la mutation cl-1 /cl-1) vont progressivement disparaître; seul subsistera le type mitochondrial compatible avec cette mutation (SAINSARD *et al.* 1974). La vitesse d'élimination du type mitochondrial incompatible peut varier entre une dizaine et quelques centaines de générations cellulaires.

## III. — Hypothèses explicatives

Pour tenter d'expliquer les trois particularités de la stérilité mâle cytoplasmique de la Féverole (instabilité phénotypique, reversion somatique, restauration permanente) trois types d'hypothèses peuvent être avancées.

### 1. — *Le génotype du mainteneur*

On peut penser qu'au cours des rétrocroisements effectués pour introduire des lignées d'intérêt agronomiques dans le cytoplasme mâle-stérile, on amène à l'état homozygote des gènes mineurs récessifs de restauration, ce qui pourrait expliquer qu'une fraction de la descendance retourne à l'état fertile.

Cette hypothèse ne rend pas compte des reversions somatiques ou alors il faut admettre, comme pour le modèle de Clement d'un gène mutateur, que ces gènes peuvent se manifester au cours du développement de la plante.

Berthelem (1970) a superposé au programme de conversion des lignées d'intérêt agronomique en mâle stérile, la sélection généalogique du parent mâle. On aurait du, dans ce cadre, trouver les arrangements géniques favorables à l'expression de la stérilité mâle, écarter les allèles responsables de la reversion phénotypique, ou le gène mutateur.

### 2. — *La transmission par le pollen*

On peut imaginer qu'à chaque rétrocroisement de la lignée mâle stérile par le mainteneur, ce dernier amène une fraction de son cytoplasme par le tube pollinique. Les cytoplasmones « compatibles » ainsi introduits se multiplieraient plus ou moins vite selon le contexte génétique. Un phénomène de ce type concernant les chloroplastes (plastidomes) est décrit chez *Pelargonium* (Tilney-Basset, 1963, 1965, 1970). Ce type d'explication pourrait rendre compte de l'hétérogénéité cytoplasmique et de la restauration permanente. Le restaurateur se définirait comme une plante qui fait passer systématiquement ses cytoplasmones « compatibles », que la moitié mâle du génome (ou le noyau hybride) sélectionne rapidement en quelques dizaines ou centaines de divisions cellulaires. Les mainteneurs seraient alors caractérisés par leur moindre aptitude à transmettre leurs cytoplasmones et / ou à les sélectionner. Mais cette distinction restaurateur-mainteneur est compliquée par le fait que chez la Féverole (comme d'ailleurs chez le Mil) on connaît au moins deux constitutions cytoplasmiques stériles. Et une même lignée mâle, porteuse de cytoplasmones compatibles (et du génome sélectif correspondant) peut restaurer un cytoplasme et maintenir l'autre.

### 3. — *L'hétérogénéité de la lignée femelle*

On trouve entre les plantes d'une même lignée mâle-stérile cytoplasmique instable, comme entre les tiges d'une même plante, une grande variabilité au niveau de l'expression de la stérilité mâle. Que l'on examine le taux d'autoféconda-

tion sur les chandelles de Mil ou la structure du pollen par observation cytologique des étamines de Féverole, on trouve tous les intermédiaires possibles entre une plante ou un secteur entièrement stérile (o graines en autofécondation, tous les grains de pollen vides de cytoplasme) et une plante ou un secteur entièrement fertile (grenaison abondante en autofécondation, pollen normal). L'hypothèse peut alors se formuler ainsi : dans une lignée mâle-stérile cytoplasmique instable, les plantes possèdent deux types de cytoplasmones (de chondriomes?) en proportions variables. Le génome nucléaire intervient comme un agent sélectif. Ceci permet de rendre compte du taux de retour à la fertilité, variable selon le génotype, de la restauration permanente et de la réversion somatique. En effet, on peut concevoir qu'au cours de la morphogenèse de la plante, en fonction des conditions de milieu, et suivant les mécanismes de répression/dérépression, le rôle sélectif du noyau puisse varier.

## IV. — Incidences agronomiques, application et vérification

Les phénomènes d' « instabilité », tels qu'ils sont décrits plus haut, ont pour conséquence évidente l'impossibilité d'obtenir une population entièrement hybride. En effet, on récolte sur la lignée femelle une fraction plus ou moins importante de graines issues d'autofécondations. Le faible pouvoir de multiplication de la Féverole implique 4 à 5 générations de multiplication en champ, sans tri possible, de la lignée mâle-stérile. Les retours à la fertilité pollinique entraînent une telle chute du rendement attendu du lot hybride que l'exploitation commerciale en est impossible. Les hypothèses proposées permettent d'envisager une solution à ce problème agronomique. Elle consisterait en une sélection à l'intérieur de la variabilité cytoplasmique probable d'une lignée mâle-stérile.

Une expérience entreprise par SEQUIER (1975) sur le Mil est à cet égard démonstrative. Au Sénégal, en retenant sur la lignée Tift. 239 $d_2A_2$ (mâle-stérile) les chandelles les moins stériles et en les autofécondant, on arrive par autofécondations successives à accroître significativement la fertilité des plantes. Néanmoins, il reste encore chez ces plantes « presque fertiles », après 3 cycles d'autofécondation, suffisamment de variabilité entre les chandelles (entre les tiges) pour qu'on puisse envisager une démarche inverse, vers la stérilité.

Sur la Féverole, où le problème agronomique est plus aigu, on envisage une approche similaire. En multipliant par voie végétative (AUBRY *et al.*, 1975; THIELLEMENT, 1975) et / ou par voie sexuée, les secteurs où le taux de retour à la fertilité est le moins fréquent, ou bien les plantes où la stérilité mâle est la plus complète, on espère appauvrir progressivement (ou brutalement) la plante en cytoplasmones « compatibles ».

Reste posé le problème de l'origine de l'hétérogénéité cytoplasmique d'une plante mâle-stérile « instable », la fréquence de ce phénomène conditionnant l'efficacité de la sélection somatique ou maternelle.

Soit l'hétérogénéité préexistait dans les deux plantes retenues, l'une par BOND (cytoplasme anglais dit « 447 »), l'autre par BERTHELEM (cytoplasme « 350 »), et a été depuis entretenue au cours des programmes de conversion.

Soit l'hétérogénéité cytoplasmique est due à une mutation (réverse « incompatible » → « compatible ») ou au passage par le pollen d'éléments « compatibles ». Dans ce cas, la sélection pour le mainteneur doit avoir prise sur le phénomène, le taux de mutation ou de transmission étant lié au génotype du parent récurrent.

## Conclusion

En retenant l'interprétation de la stérilité mâle cytoplasmique chez la Féverole en termes de modifications d'équilibre de populations de cytoplasmones, et pour rendre compte des trois particularités (instabilité phénotypique, réversion somatique, restauration permanente), le génome nucléaire est considéré comme un agent sélectif. Il s'ensuit que la sélection généalogique pour le mainteneur qui a pu être entreprise, constitue une phase indispensable. Il semble néanmoins qu'une lignée mâle-stérile instable est hétérogène du point de vue cytoplasmique. En conséquence, une sélection à l'intérieur de la variabilité existante entre les plantes (ou entre les différents secteurs d'une même plante) doit permettre de progresser vers la stabilisation du cytoplasme mâle-stérile.

*Reçu pour publication en mai 1976.*

## Remerciements

Je tiens à remercier MM. A. Bervillé et J. Sequier pour de fructueuses discussions et MM. Y. Demarly, P. Dommergues, G. Pelletier et M^lle^ F. Vear qui ont contribué par leurs critiques constructives à l'élaboration de cette note.

## Summary

*Cytoplasmic male-sterility in* Vicia faba *L.*
I. — *Historical and hypothetical aspects*

Instability of cytoplasmic male-sterility in field bean (*Vicia Faba* L) is described. The particularities observed in cytoplasmic phenomena in *Drosophila* and *Paramecium* may provide useful comparisons. An interpretation in terms of equilibrium between cytoplasmic populations is presented. Among the proposed hypothesis, accent is put on cytoplasmic heterogeneity of the male-sterile line. A somatic or maternal type of selection may, in this case, provide the stability of the male-sterile cytoplasm.

## Références bibliographiques

Adoutte A., Beisson J., 1972. Evolution of mixed populations of genetically different mitochondria. *Nature*, **235**, 393.

Atanasoff D., 1971. The viral nature of cytoplasmic male sterility in plants. *Phytopathol. Z.*, **70**, 306-322.

Aubry A.-M., Dutuit P., Thiellement H., Bervillé A., 1975. Propagation végétative de la Féverole (*Vicia faba*) à partir de fragments de tiges. *Ann. Amélior. Plantes*, **25**, 225-229.

Berthelem P., 1970. *Rapport d'activité de la Station de Rennes*, *I.N.R.A.*, 1968-1970.

BERVILLÉ A., DEMARLY Y., 1970. La stérilité mâle cytoplasmique chez les Végétaux. *Eucarpia. La stérilité mâle chez les plantes horticoles*. Versailles, 147-161.

BOND D.-A., FYFE J.-L., TOYNBEE-CLARKE G., 1966. Male-sterility in field beans III — Male-sterility with a cytoplasmic type of inheritance. *J. agric. Sci.*, **66**, 359-367.

BUCHETON A., 1973. Contribution à l'étude de la stérilité femelle non mendélienne chez *Drosophila melanogaster*. Transmission héréditaire des degrés d'efficacité du facteur « réacteur ». *C. R. Acad. Sci. Paris*, série D, **276**, 641-644.

BUCHETON A. et PICARD G., 1975. Mise en évidence d'une influence partiellement héritable de l'âge sur un phénomène de stérilité femelle à déterminisme non mendélien. *C.R. Acad. Sci. Paris*, série D, **281**, 1 035-1 038.

CLEMENT W. M., 1975. Plasmon mutations in cytoplasmic male-sterile pearl millet, *Pennisetum typhoides*. *Genetics*, **79**, 583-588.

DEMARLY Y., 1974. Quelques données nouvelles en amélioration des Plantes *Agron. tropicale*, **29**, 9, 871-891.

EDWARDSON J.-R., BOND D.-A. and CHRISTIE R.-G., 1976. Cytoplasmic sterility factors in *Vica Faba L.* III *Genetics*, **82**, 443-449.

LAUGHNAN J.-R. and GABAY S.-J., 1973. Mutations leading to nuclear restoration of fertility in S male sterile cytoplasm in Maize. *Theor. appl. Genet.*, **43**, 109-116.

LECLERCQ P. (non publié).

LEVINGS III C. S. and PRING D.-R., 1976. Restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA form normal and Texas cytoplasmic male-sterile maize. *Science*, **193**, 158-160.

PICARD J., 1972. *Rapport d'activité de la Station de Dijon. I.N.R.A.*, 1968-1972.

PICARD G., 1971. Un cas de stérilité femlle chez *Drosophila melanogaster* lié à un agent transmis maternellement. *C.R. Acad. Sci. Paris*, série D, **272**, 2 484-2 487.

RHOADES M.-M., 1943. Genic induction of inherited cytoplasmic difference. *Proc. Nat. Acad. Sci, U.S.A.*, **29**, 327-329.

SAINSARD A., CLAISSE M., BALMEFREZOL M., 1974. A nuclear mutation affecting structure and function of mitochondria in *Paramecium Molec. gen. Genet.*, **130**, 113-125.

SEQUIER J., 1971, 1972, 1973, 1974. *Rapports d'activité O.R.S.T.O.M.*

SEQUIER J., 1975. *Étude de la stabilité de la stérilité mâle cytoplasmique chez la lignée de mil penicillaire. Tifton 239 DA* . D.E.A. Université de Paris-Sud, Orsay, 18 p.

SINGH A. and LAUGHNAN J.-R., 1972. Instability of S male-sterile cytoplasm in maize. *Genetics*, **71**, 607-620.

THIELLEMENT H., 1975. *Sur la stérilité mâle cytoplasmique de la Féverole. Multiplication végétative par bouturage* in vitro *de mâles-stériles cytoplasmiques et de mâles fertiles isogéniques*. D.E.A. Université de Paris-Sud, Orsay, 36 p.

TILNEY-BASSET R.A.E., 1963, 1965, 1970. Genetics and plastid physiology in *Pelargonium*. *Heredity*, **18**, 485-504, **20**, 451-466, **25**, 89-103.

VEAR F. (non publié).

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (2), 211-222.

# Aspects statistiques de la qualité d'un plan d'expérience
# I. — Le choix d'une expérience

P. VINCOURT

*Station d'Amélioration des Plantes Fourragères, I.N.R.A., 86600 Lusignan*

## Résumé

De la conception d'une expérience à son interprétation, le chercheur doit contrôler l'exactitude et la cohérence des décisions qu'il prend et leurs implications sur l'efficacité de sa démarche. Dans un premier article, à partir d'un exemple, nous rappelons les différentes étapes conduisant au choix d'une expérience en fonction des objectifs poursuivis et des contraintes pratiques, en utilisant les concepts de la théorie de la décision.

## Introduction

Quel que soit l'objet de son étude, le chercheur est amené à prendre un certain nombre de décisions et à envisager leurs implications sur l'efficacité de sa démarche. Par exemple, le sélectionneur veut choisir des plantes dans sa pépinière de telle façon que le groupe ainsi constitué présente une amélioration génétique pour certains critères par rapport à la population de départ. Ou encore, l'expérimentateur veut savoir si l'utilisation d'une création variétale entraîne un gain substantiel de rendement par rapport aux variétés déjà existantes.

Dans ces deux exemples, les décisions finales sont simples : un certain nombre de numéros cochés sur le registre de la pépinière dans le premier cas, une réponse positive ou négative dans le second. Cependant, elles ne seront efficaces que dans la mesure où le chercheur a pris auparavant un ensemble de décisions correctes et cohérentes quant au choix :

— du support expérimental (taille des parcelles élémentaires, nature du dispositif lié au sol),

— de l'expérience à réaliser en fonction des objectifs poursuivis, et en particulier de la qualité des informations qu'on veut en tirer,

— du mode de réalisation et d'interprétation de l'expérience elle-même.

Au cours d'une séquence expérimentale, le biologiste et le statisticien interviennent de manière différente :

a) *Support expérimental et interprétation biologique*

Quelles que soient l'unité expérimentale ou la méthode de test biologique choisies, le statisticien peut proposer un dispositif permettant d'obtenir des estimations non biaisées du point de vue statistique, mais ne peut garantir l'utilité des estimateurs obtenus pour le problème particulier posé par le biologiste, c'est-à-dire qu'il ne lui revient pas de garantir l'absence de biais biologique. Par exemple, en préconisant la randomisation à l'intérieur d'un bloc d'un dispositif en plantes isolées, le statisticien peut garantir au sélectionneur qu'il estimera sans biais la valeur d'un génotype non soumis à l'influence de la compétition, mais ne garantira pas sa valeur en condition de semis dense. Les décisions portant sur le choix du support expérimental reviennent surtout au biologiste, et leur étude, qui nécessite elle-même une expérimentation importante, ne sera pas abordée pour l'instant.

b) *Modèle pour la connaissance et modèle pour l'action*

On peut dégager deux grands types d'objectifs à l'expérimentation :

1) Soit on recherche le modèle permettant le mieux d'expliquer la variabilité d'un phénomène. Par exemple, on veut savoir quel type de fonction analytique représente le mieux la courbe de réponse d'une variété à l'azote.

2) Soit on cherche à estimer avec le plus de précision possible un type d'effet particulier, par exemple l'impact d'une irrigation pratiquée le 15 juillet sur une culture de maïs.

On pourra parler d'objectif de *connaissance* dans le premier cas, et d'*action* dans le second. Bien que certains plans expérimentaux permettent de répondre simultanément à ces deux types de questions, le biologiste sait qu'il ne peut atteindre le même degré de précision sur la dynamique générale d'un phénomène et sur la valeur prise par cette dynamique en un point précis. Par conséquent, selon la priorité de l'une ou l'autre des préoccupations, le dispositif optimal ne sera pas le même. C'est en fonction des objectifs et des contraintes du biologiste que le statisticien peut indiquer en quels points il sera opportun d'étudier un phénomène et quelles incertitudes il subsistera dans les décisions finales : choix du nombre et des niveaux des facteurs à introduire dans une expérience, choix du nombre de répétitions.

c) *Réalisation de l'aléatoire expérimentale*

Lorsque l'on peut considérer une expérience comme la réalisation d'une aléatoire plus ou moins complexe, le statisticien peut indiquer au biologiste certaines règles de décisions optimales. Par exemple, décider la randomisation dans une expérience au champ assure l'absence de biais des estimations, et choisir certaines méthodes de comparaisons multiples évite certaines incohérences apparentes se produisant lors de l'utilisation en série des tests F de Fisher et de la p.p.d.s.

Dans une première partie, nous introduisons, à partir d'un exemple, quelques éléments de la théorie de la décision et leurs implications en statistique classique, en particulier sur le choix d'une expérience.

Ultérieurement, nous indiquerons comment, dans quelques cas concrets, on peut raisonner le choix des décisions portant d'une part sur le plan d'expérience en fonction des objectifs poursuivis, d'autre part sur la mise en place et sur l'interprétation de l'expérience.

## I. — Le choix d'une expérience

A l'aide d'un exemple, nous rappelons les concepts de la théorie de la décision, et nous indiquons les différentes étapes à considérer dans le choix d'une expérience.

Supposons qu'un biologiste afin d'étudier la liaison entre deux séries alléliques (A,*a*) et (B, *b*), analyse la distribution de la descendance en autofécondation d'une plante de génotype connu (A*a*, B*b*) A et B étant complètement dominants et les phénotypes AB, A*b*, *a*B, *ab* étant identifiables. Notons immédiatement qu'en agissant ainsi, il fait référence consciemment ou non à un modèle régissant cette distribution et mettant en jeu certains paramètres indicateurs de la liaison qu'il veut analyser.

L'expérience à réaliser est la suivante : on examine, un à un, N individus provenant de cette descendance et on les classe dans les catégories phénotypiques AB, A*b*, *a*B, *ab*. On supposera que l'effectif de la descendance est très grand. Cette hypothèse assure l'indépendance entre les N épreuves produisant l'échantillon.

Pour l'expérimentateur, la première étape du raisonnement devant conduire au choix d'une expérience particulière, consiste à faire une partition dans l'ensemble des distributions observables, qui associe à toute hypothèse de type biologique une distribution spécifique théorique. Dans un deuxième temps, il doit choisir un ensemble de règles de décision, c'est-à-dire pratiquement un critère de distance entre la distribution observée et les différentes distributions envisageables. Enfin, dans un troisième temps, il doit choisir dans cet ensemble une règle particulière qui lui assurera un contrôle convenable des erreurs qu'il aura pu faire en prenant telle ou telle décision.

### 1. — *Correspondance entre distribution observable et hypothèse « biologique »*

Quel que soit le phénomène impliquant la disjonction, dans notre exemple, et sous réserve que l'expérience ait été réalisée de la manière indiquée, la loi du nombre d'individus classés dans les catégories phénotypiques AB(1), *ab*(2), A*b*(3), *ab*(4) est la loi multinomiale de paramètres N, $\pi_1$, $\pi_2$, $\pi_3$, $\pi_4$ ou $\pi_i$ est la probabilité qu'un individu appartienne à la catégorie $i$. Si $N_i$ est l'aléatoire dont les valeurs prises dans l'expérience sont les nombres d'individus appartenant à la catégorie $i$, la loi de probabilité de la distribution phénotypique est :

$$(1) P(N_1 = n_1, N_2 = n_2, N_3 = n_3, N_4 = n_4) = \frac{N!}{n_1!n_2!n_3!n_4!} (\pi_1)^{n_1} (\pi_2)^{n_2} (\pi_3)^{n_3} (\pi_4)^{n_4}$$

— Si les gènes sont liés ou indépendants, les probabilités sont fonctions d'un paramètre $\theta^*$ : $\pi_1 = \frac{2+\theta}{4}$, $\pi_2 = \pi_3 = \frac{1-\theta}{4}$, $\pi_4 = \frac{\theta}{4}$ où $\theta$ est le taux de linkage, égal à $\frac{1}{4}$ si les gènes sont indépendants, supérieur à $\frac{1}{4}$ si les gènes sont liés.

— Si la distribution réelle n'est consécutive à aucun modèle de ségrégation classique, les $\pi_i$ ne sont pas du type $\left(\frac{2+\theta}{4}, \frac{1-\theta}{4}, \frac{1-\theta}{4}, \frac{\theta}{4}\right)$

La figure 1 représente la partition de l'ensemble des états possibles de la distribution, en hypothèses exclusives interessantes pour l'expérimentateur.

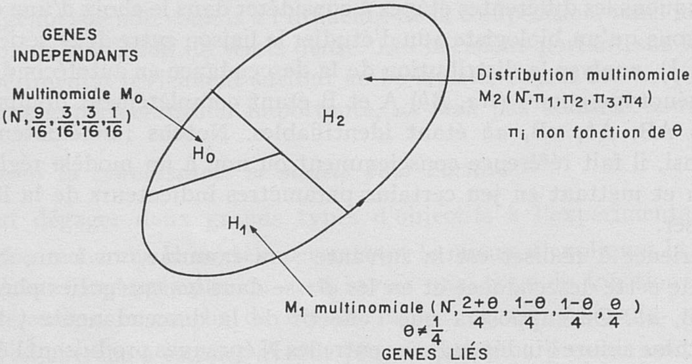



FIG. 1. — *Description des états possibles de la distribution de l'échantillon.*

## 2. — *Choix d'une règle de décision*

Nous supposerons dans la suite que les seuls : $H_0$ et $H_1$ (cf. fig. 1) sont possibles, c'est-à-dire que la distribution observée est bien une disjonction consécutive aux modèles de ségrégation classique.

Dans l'ensemble des règles de décision habituelles, celles qui sont fondées sur le rapport de vraisemblance jouent un grand rôle. Leur principe est simple. Intuitivement, on conçoit qu'une hypothèse est d'autant plus vraisemblable que la probabilité qu'on a d'obtenir l'échantillon expérimental lorsque cette hypothèse est vraie, est plus forte. Cette probabilité est appelée la vraisemblance expérimentale de l'échantillon sous cette hypothèse.

Dans notre exemple, nous rejetterons l'hypothèse $H_0 \{ \theta = 1/4 \}$ si la vraisemblance expérimentale sous $H_0$ (notée $V_{H0}$) est trop petite devant la vraissemblance expérimentale sous $H_0$ U$H_1$ (notée $V_{H0}$ $U_{H1}$).

Dans la famille des règles de décision engendrée par l'examen du critère $\lambda = V_{H0} / V_{H0\ uH1}$ qui prend ses valeurs dans $\Omega = \{0,1\}$, nous devons choisir une règle particulière — c'est-à-dire un segment $\omega_0 = \{0, \lambda_0\}$ assurant une bonne

(*) Si $r$ est le taux de recombinaison, $\theta = (1 - r)^2$.

efficacité à l'expérimentateur après quoi nous déciderons de rejeter $H_0$ si la valeur prise par $\lambda$ dans l'expérience appartient à $\omega_0$.

Nous montrons dans la suite que le choix de $\omega_0$ selon certains critères conduit à réaliser l'expérience selon un protocole assez précis, qui peut intégrer la connaissance *a priori* de l'expérimentateur.

### 3. — *Le choix de l'expérience particulière à réaliser*

Afin de comparer toutes les règles basées sur le rapport de vraisemblance, introduisons une fonction qui associe à tout état vrai $\theta$($H_0$ ou $H_1$) et à toute action ($a$) envisagée à la suite des décisions {décider $H_0$} ou {décider $H_1$}, une perte $L(\theta, a)$. Le choix de cette fonction est l'affaire de l'expérimentateur, et est arbitraire au moins dans l'ensemble de celles qui n'assurent pas une perte systématique pour l'une des actions quel que soit l'état vrai $\theta$ (auquel cas aucune expérience n'est utile). Dans notre exemple, on pourrait ainsi intégrer dans cette fonction le coût de l'expérience, et le bénéfice net à escompter d'un schéma d'amélioration conçu à partir de telle ou telle décision. On voit facilement ici que ce *choix* n'est pas simple, et pratiquement il repose davantage sur un *pari* que sur une prospective raisonnée.

a) *Risque associé à une règle de décision*

On appelle risque associé à la règle de décision d, c'est-à-dire dans notre propos au choix d'un segment $\omega_0$ dans $\Omega$, la perte moyenne conditionnée par l'état vrai $\theta$ de la distribution (FERGUSON T., 1967) :

$$R(\theta, \omega_0) = E_\theta\{L(\theta,a)\} = P\{a / \theta\}.\ L(\theta,a) + P\{\bar{a} / \theta\}.\ L(\theta,\bar{a})(*)$$

Il apparaît immédiatement que dans le cas où l'expérimentateur s'intéresse au test d'une hypothèse $H_0$ contre son alternative $H_1$, il doit porter son attention aux *deux* fonctions de risque $R(H_0, \omega_0)$ et $R(H_1, \omega_0)$. Le critère utilisé dans le test étant la valeur $\lambda$, nous emploierons dans la suite les notations $R(H_0, \lambda_0)$ et $R(H_1, \lambda_0)$.

— Sous $H_0$ et si N, la taille de l'échantillon est suffisamment grande, la loi de $W = -2\ ln\ \lambda$ est un $\chi^2$ à 1 degré de liberté. Donc si $H_0$ est vraie, on rejette $H_0$ avec la probabilité qu'un $\chi^2$ à 1 degré de liberté dépasse la valeur $-2\ ln\ \lambda_0$.

| | | |
|---|---|---|
| *Règle de décision* : | Rejet de $H_0$ avec le critère $\lambda_0$ | $\Leftrightarrow -2\ ln\ \lambda > -2\ ln\ \lambda_0$ |

Si $\lambda_0$ a été choisi de telle sorte que $P\{\chi_1^2 < -2ln\ \lambda_0\} = 1 - \alpha$, le risque sous $H_0$ s'exprime de la manière suivante :

$$R(H_0, \lambda_0) = (1 - \alpha)\ L(\theta \to H_0\,;\ \text{décider } H_0) + \alpha\ L(\theta \to H_0,\ \text{décider } H_1)$$

(*) $\bar{a}$ recouvre toutes les actions possibles sauf $a$.

La fonction de perte L étant déterminée, le choix de $\lambda_0$ donc de $\alpha$ équivaut au choix *a priori* du risque associé à la règle de décision sous l'hypothèse $H_0$. Ce risque est appelé *risque de première espèce*, et dépend, le plus souvent d'une manière très simple, de la probabilité $\alpha$ appelée *seuil* ou niveau du test.

— Sous $H_1$, la loi de W est un $\chi^2$ non centré, noté $\chi'^2_{1,k}$. On trouvera en annexe l'expression du paramètre de non centralité $k$ et les formules approchées permettant de tabuler la distribution de cette loi.

Conformément à la règle de décision, on choisit donc l'hypothèse $H_1$ lorsqu'elle est vraie, avec la probabilité qu'un $\chi'^2_{1,k}$ dépasse la valeur $-2ln\ \lambda_0$. D'où :

$$R(H_1, \lambda_0) = P(\chi'^2_{1,k} < -2ln\ \lambda_0)\ L(\theta \to H_1, \text{décider } H_0) + P(\chi'^2_{1,k} > -2ln\ \lambda_0) \times L(\theta \to H_1, \text{dec. } H_1).$$

Ce risque, appelé *risque de deuxième espèce*, dépend de $\lambda_0$, donc du risque de première espèce. L'expression du paramètre $k$ (en annexe) montre qu'il varie également en fonction de la taille N de l'échantillon et de la vraie valeur du paramètre $\theta$, c'est-à-dire à la fois du protocole expérimental et de l'état réel du phénomène étudié.

Par conséquent, un expérimentateur qui veut contrôler les 2 risques afférant à la règle de décision qu'il utilise, doit choisir attentivement le seuil $\alpha$ (donc le critère $\lambda_0$) et le dispositif expérimental (ici, le nombre N). Ce choix est relatif à la fonction de perte L, donc aux objectifs qu'il se fixe. Le contrôle des risques peut se faire de différentes manières, c'est-à-dire qu'on peut choisir une expérience en fonction de différents critères.

b) *Les critères de choix d'une expérience* :

Nous utilisons dans la suite la fonction de perte $L_0$ ainsi définie :

| | $\theta$ \ a | Décider $H_0$ | Décider $H_1$ | |
|---|---|---|---|---|
| $L_0$ : | $H_0$ | 0 | 1 | |
| | $H_1$ | 1 | 0 | |

On obtient dans ces conditions :

$$R(H_0, \lambda_0) = \alpha$$
$$R(H_1, \lambda_0) = 1 - P(\chi'^2_{1,k} > -2ln\ \lambda_0) = 1 - P\lambda_0(k)$$

La probabilité $P\lambda_0\ (k)$ est la *puissance* du test de $H_0$ contre $H_1$ — En termes heuristiques, elle caractérise, relativement a un seuil $\alpha$, l'aspect « conservatif » ou non d'une expérience. La situation idéale serait bien sur celle où l'on aurait un seuil de 0 et une puissance de 1 : on aurait alors toutes les chances de prendre la bonne décision, quelle que soit la valeur de $\theta$.

Supposons que l'expérimentateur affecte *a priori* à l'état $H_0$ une probabilité $p$,

en raison de ses connaissances antérieures. Le risque associé à cette distribution *a priori* p sur les états vrais s'écrit :

$$R(p, \lambda_0) = p\alpha + (1 - p) \quad [1 - P\lambda_0 (k)] \qquad (1)$$

Cette expression suffit à montrer que la seule considération du niveau (ou du seuil) dans le choix d'une règle de décision revient à accorder à l'état $H_0$ une probabilité *a priori* de 1, ce qui n'est pas satisfaisant. Le problème est donc de choisir le niveau en fonction de certains critères permettant de contrôler la puissance.

Étudions les deux critères du « minimax » et de BAYES, et cherchons comment choisir l'expérience (c'est-à-dire N) en fonction de ces critères.

*b.1. 1er Critère : critère « minimax »*

Supposons que l'expérimentation s'intéresse particulièrement à la valeur $\theta = 0{,}36$, qui correspond à un taux de recombinaison de 40 p. 100. Traçons, pour différentes valeurs de N, la courbe de $\beta = 1 - P\lambda_0\ (k)$, la probabilité d'erreur de seconde espèce, en fonction de $\alpha$.

Dans ce cas, choisir l'expérience selon le critère « minimax », c'est choisir N, la taille de l'expérience et $\alpha$, le seuil auquel sera fait le test du $\chi^2$, qui minimise le risque maximum lorsque $\theta$ varie.

— si $\theta$ appartient à $H_0$ (pas de liaison des gènes), le risque vaut :

$$R(H_0, \lambda_0) = \alpha$$

— Si $\theta$ appartient à $H_1$ (gènes liés), le risque vaut :

$$R(H_1, \lambda_0) = 1 - P\lambda_0(k) = \beta(\alpha)$$

D'où la règle de choix de l'expérience suivante :

*Règle de choix de l'expérience* :

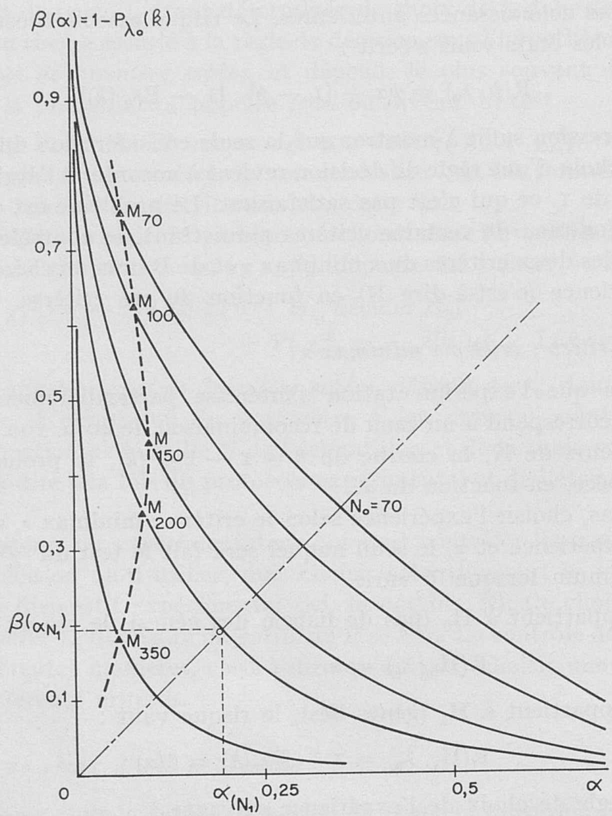
$$(N, \alpha) \text{ qui minimise sup } (\alpha, 1 - P\lambda_0 (k))$$

*Application :* Le risque « minimax » conditionné par le choix de N est déterminé par l'abcisse (égale à l'ordonnée) du point d'intersection de la première bissectrice avec la courbe $\beta_N = f_N (\alpha)$ (voir figure 2). Lorsque N augmente, ce risque diminue. Par conséquent, avec la fonction de perte choisie, si on étudie la détermination de N dans le segment $\{N_0, N_1\}$ on retiendra la valeur $N_1$ la plus grande dans ce segment, et on fera le test $\chi^2$ avec le seuil $\alpha_{N_1}$ et la puissance $1 - \beta (\alpha_{N_1})$.

Par exemple, si $\{N_0, N_1\}$ est $\{70, 200\}$, on choisit de faire l'expérience avec 200 individus, et le test au seuil $\alpha_{N_1} = 0.19$.

*b.2. 2e critère : Critère de* BAYES

Nous prenons toujours $\theta = 0.36$, et supposons de plus que le biologiste affecte *a priori* aux hypothèses $H_0$ et $H_1$ les probabilités respectives $p = 0{,}7$ et $1 - p = 0.3$




-——- lieu de points optimaux pour critère *minimax* Fonction de perte $L_0$
-·-·- lieu des points optimaux pour le critère *de* BAYES Fonction de perte $L_0$, p 0.7.

FIG. 2. — *Évolution de la probabilité* β (α) *d'erreur de seconde espèce en fonction du seuil* α, *pour différentes valeurs de N*

Le risque correspondant est (expression (1)) :
$R(0{,}7.\ \lambda_0) = 0.7\alpha + 0.3\beta(\alpha)$. D'où :

*Règle de choix de l'expérience :*

$(N,\alpha)$ qui minimise $R(0.7, \lambda_0)$

*Application :*

R (p, $\lambda_0$) atteint un extremum, en l'occurence son minimum, lorsque :

$$\frac{\delta R}{\delta \alpha} = 0 \Leftrightarrow \frac{\delta \beta}{\delta \alpha} = -\frac{p}{1-p} = -\frac{7}{3}$$

Les points (αN, βN) caractérisant le critère de BAYES conditionné au choix

de N sont donc ceux où la droite de vecteur directeur $\left(1, -\frac{7}{3}\right)$ est tangente à la courbe $\beta_N = f(\alpha_N)$. figure 2). Le risque de BAYES, mesure algébrique de la projection du vecteur $\overrightarrow{OM_N}$ sur le vecteur $\overrightarrow{P}$ (0.7, 0.3), décroit lorsque N augmente. Par conséquent, parmi toutes les expériences de taille comprise entre $N_0$ et $N_1$ ($N_0 < N_1$), on choisira celle de taille $N_1$, et on fera le test de $\chi^2$ au seuil de $\alpha_{N_1}$. Remarquons que les seuils $\alpha_N$ de BAYES varient peut avec N : compte tenu de la possibilité *a priori* affectée à l'hypothèse $H_0$, on choisira une expérience de grande taille plus pour se prémunir contre une erreur de seconde espèce (grande variation du N « de BAYES ») que pour s'octroyer un supplément de précaution en ce qui concerne l'erreur de première espèce.

## 4. — *Discussion*

Les résultats obtenus dans cet exemple sur le choix de la taille N de l'expérience sont assez triviaux : les biologistes sont bien conscients qu'une disjonction offre d'autant plus d'intérêt qu'elle porte sur un grand nombre d'individus. Cependant, pour une taille donnée, les critères indiqués permettent de savoir à quel seuil on fera le test et quelle probabilité on aura alors de rejeter l'hypothèse nulle si elle est fausse (puissance du test).

Toute considération sur la valeur statistique des résultats d'une expérience et sur la possibilité d'induction étant mise à part, les facteurs limitant la taille d'un dispositif sont la surface disponible, la main d'œuvre utilisable, plus généralement tout paramètre augmentant son coût.

Ces facteurs peuvent être pris en compte dans la fonction de perte *L*. Supposons qu'un biologiste veuille y introduire la taille *N* de l'expérience de la façon suivante : l'écart entre les coûts des « bonnes » décisions et des décisions « fausses » tend vers zéro lorsque N devient très grand (2). On se réserve ainsi la possibilité de rejeter des expériences trop lourdes, sans commune mesure avec le bénéfice attendu pour la décision correcte. Remarquons que cette démarche peut être dangereuse, le chercheur pouvant rarement estimer la portée de ses démonstrations.

Afin d'intégrer la taille de l'échantillon dans la fonction de perte L, posons :

$$L(H_0, \text{ décider } H_0) = L(H_1, \text{ décider } H_1) = 1 - \frac{1}{1 + Nc}$$

$$L(H_0, \text{ décider } H_1) = L(H_1, \text{ décider } H_0) = 1$$

Le paramètre *c* est le coût unitaire de l'observation. Lorsqu'il prend la valeur zéro, on se ramène au cas de la fonction $L_0$. D'autre part, lorsque N devient très grand, le coût des décisions correctes tend vers le coût des décisions incorrectes. Nous avons calculé pour trois valeurs de *c* le risque de BAYES ($p = 0.7$) conditionné par les différentes valeurs de N. Les résultats sont portés dans le tableau 1. Il apparaît que selon le coût des observations, les expériences à retenir sont les plus lourdes (pour $c = 5.10^{-4}$), les moins lourdes (pour $c = 2.10^{-3}$), ou de taille intermédiaire (pour $c = 10^{-3}$).

Cet exemple est théorique. Cependant, malgré la difficulté de choix d'une

fonction de perte réaliste, il pourrait être intéressant de mettre en évidence certaines valeurs limites permettant à l'expérimentateur de choisir un dispositif selon d'autres critères que des probabilités d'erreur souvent abstraites

TABLEAU I

*Choix de l'expérience* (N,α) *à retenir en fonction du coût unitaire* c *des observations.*

| c | N = 70 | N = 100 | N = 150 | N = 200 | N = 350 | Expérience (N, α) à retenir |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $5.10^{-4}$ | 0.2938 | 0.28 | 0.259 | 0.2418 | 0.2306 | (350, 0.06) |
| $10^{-3}$ | 0.3169 | 0.3128 | 0.3073 | 0.3070 | 0.3303 | (200, 0.09) |
| $2.10^{-3}$ | 0.3588 | 0.3700 | 0.3873 | 0.4045 | 0.4632 | (70, 0.06) |

Dans le calcul de la probabilité d'erreur de seconde espèce, nous nous sommes placés dans le cas où l'expérimentateur accepte de décider que les gènes sont indépendants dès que θ est inférieur à 0.36 (§3, b-2). Cette option est peu sévère. Cependant, s'il se fixe comme limite $\theta = 0.30$, toutes choses étant égales par ailleurs la puissance de son test sera moindre. Ce fait est illustré dans la figure 3. D'autre part, s'il utilise le critère de BAYES, il est vraisemblable qu'il affectera à l'intervalle $\left[\frac{1}{4}, 0{,}30\right]$ une probabilité *a priori* différente de celle qu'il a affectée ($p = 0.7$) à l'intervalle $\left[\frac{1}{4}, 0{,}36\right]$. Par conséquent, selon les implications des résultats de l'expérience sur son travail, il sera amené à être plus ou moins sévère avec les tests à effectuer, et les dispositifs à choisir seront différents.

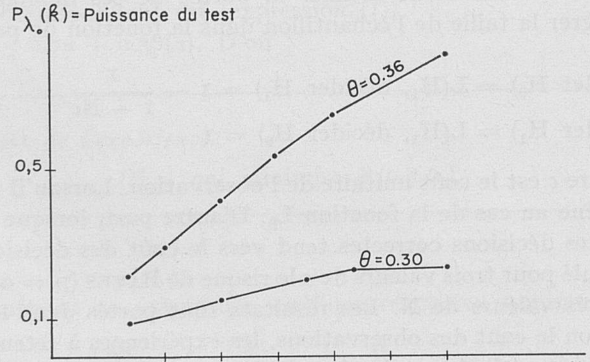



FIG. 3. — *Évolution de la puissance du test de* $H_0$ *contre* $H_1$, *en fonction de N de l'échantillon, pour deux valeurs de* θ *et pour* $\alpha = 0{,}05$

## Conclusion

Dans un certain nombre de cas, on peut donc choisir l'expérience la meilleure relativement à tel ou tel critère et à un objectif défini. Nous avons ici rappelé la démarche et le type de concepts à utiliser pour effectuer ce choix. Par la suite, la mise en place de l'expérience peut imposer des contraintes, telles que la surface utilisable ou la main d'œuvre disponible. L'intégration de ces contraintes dans le processus du choix de l'expérience, par le moyen de la fonction de coût ou par son influence directe sur la précision des règles de décision, peut éviter à l'expérimentateur de mettre en place un dispositif lui laissant peu de chances d'aboutir aux bonnes conclusions.

Pour l'amélioration des plantes, l'utilisation d'outils tels que les génétiques formelle ou quantitative ne se révèle efficace que si les choix effectués successivement au cours de la sélection sont corrects. Nous nous proposons donc d'aborder dans un prochain article le problème de l'optimisation de dispositifs liés au sol et de méthodes simples couramment utilisées par les sélectionneurs en employant la démarche et les critères définis auparavant.

*Reçu pour publication en septembre 1976.*

## Summary

*Statistical aspects of the quality of an experimental design*

*I. — Choice of an experiment*

From the conception of an experiments to its explanation the research worker has to check the accuracy and the coherence of the decisions he takes and their consequences on the efficiency of his approach. In a first paper, from an example, we remind the distinct steps for planning an experiment according to the purpose and the practical requirements, using some concepts of decision's theory.

## Références bibliographiques

FERGUSON T.-S., 1967. *Mathematical statistics a decision theoretic approach*, 396 p., Academic Press, New York, London.

MASSON J.-P., 1974. *Projet vulgarisation, Agronomie sciences du sol.* 1) *Décision et test d'hypothèses;* 2) *Application à l'analyse de variance* (document C.N.R.F.).

LEFORT G., 1971. *Cours de statistique*, I.N.A. Paris-Grignon, 1re année Enseignement.

## Annexe

— Sous $H_1 : \left\{ \theta \neq \frac{1}{4} \right\}$, la loi de $W = -2 \ln \lambda$ est un $\chi^2$ non centré, noté $\chi'^2_{1,k}$ de non centralité $k =$

$$k = \frac{N}{4} (\theta - \theta_0)^2 \left( \frac{1}{2 + \theta_0} - \frac{2}{1 - \theta_0} + \frac{1}{\theta_0} \right) \quad \text{où} \quad \theta_0 = \frac{1}{4}$$

La puissance $P_{\lambda_0}(k)$ du test de $H_0$ contre $H_1$ s'écrit :

$$P_{\lambda_0}(k) = P\{ \chi'^2_{1,k} > -2 \ln \lambda_0 \}$$

Elle dépend donc de N, taille de l'échantillon, et de la vraie valeur $\theta$ du taux de linkage, ainsi que de $\lambda_0$ donc du seuil $\alpha$.

— *Calcul de* $P_{\lambda_0}(k)$ :

On peut approcher la loi d'un $\chi'^2_{1,k}$ par celle d'un $\chi^2$ ayant même espérance et même variance.

$$P_{\lambda_0}(k) = P\{ \chi'^2_{1,k} > -2 \ln \lambda_0 \{ \simeq P\{ a\, \chi^2{}_b > -2 \ln \lambda_0 \}$$

avec $a = \frac{1 + 2k}{1 + k}$ et $b = \frac{(1 + k)^2}{1 + 2k}$

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (2), 223-234.

# Amélioration du Pêcher par la voie sexuée exposé d'une méthode

R. MONET

*Station d'Arboriculture fruitière*
*Centre de Recherches de Bordeaux, I.N.R.A.,*
*33140 Pont-de-la-Maye*

## Résumé

Dans les méthodes traditionnelles d'amélioration du Pêcher, les reproducteurs sont choisis selon leur valeur phénotypique; la part du hasard étant très importante, on s'efforce de travailler sur des descendances nombreuses pour recueillir les sujets exceptionnels rares; enfin, l'utilisation des connaissances génétiques est faible et la collecte d'informations, négligeable tant du point de vue de la génétique formelle du Pêcher que de la connaissance des reproducteurs.

La méthode proposée ici est basée sur une analyse de l'évolution du coefficient de consanguinité des géniteurs. Elle suggère de créer des lignées consanguines non apparentées pour les croiser ensuite et retrouver l'effet d'hétérosis qui tend à s'atténuer.

Elle fait une part importante à l'autofécondation qui permet de connaître la valeur génotypique des reproducteurs et de faire des études génétiques.

Les descendances sont attentivement observées et fichées, leur filiation doit pouvoir être établie à chaque niveau de la sélection.

## I. — Introduction

Espèce diploïde ($2n = 16$), autogame préférentielle mais aussi interféconde, à cycle sexuel relativement court (période juvénile de 2 ans), enfin se multipliant par voie végétative, le Pêcher a trop de caractères favorables pour que le sélectionneur ne soit pas enclin à la facilité.

De fait, il n'existe pas de réflection sur la stratégie de l'amélioration de cette espèce; les sélectionneurs combinent à leur gré les croisements entre variétés non apparentées (outcrossing) et l'autofécondation, HESSE (1975). Ces deux techniques permettent un brassage génétique satisfaisant faisant apparaître des individus d'élite qu'il suffit de multiplier par voie végétative.

## II. — Critique des méthodes traditionnelles

### A. — *Choix des reproducteurs suivant leur valeur phénotypique*

L'un des points les plus contestables des méthodes traditionnelles concerne le choix des reproducteurs. Ce choix se fait presque toujours sur leur phénotype; tel géniteur sera utilisé parce qu'il a des fruits colorés, tel autre parce qu'il est productif, etc.... Il est bien évident que choisir un géniteur sur sa valeur phénotypique n'est intéressant en soi que si ce géniteur transmet effectivement ses caractères, cela suppose que ceux qui intéressent le sélectionneur ont une héritabilité élevée.

Le plus souvent d'ailleurs la connaissance de l'aptitude des géniteurs, à transmettre tel ou tel caractère, s'acquiert empiriquement, par l'utilisation répétée de ceux-ci. Il s'agit donc d'une expérience personnelle à chaque sélectionneur, qui n'est pas divulguée.

### B. — *Rôle du hasard. — Utilisation de descendances très nombreuses*

La part du hasard étant très importante dans le choix des géniteurs, on a d'abord essayé d'élever des descendances très nombreuses pour avoir la certitude d'y trouver l'individu provenant d'une recombinaison de valeur exceptionnelle. On perçoit bien vite la faiblesse d'un tel raisonnement : si les géniteurs que l'on a utilisés étaient de mauvais géniteurs, toute la famille à laquelle ils ont donné naissance est sans intérêt et le prix de son entretien est un énorme gaspillage.

Aussi cette tendance a-t-elle été peu à peu abandonnée et remplacée par la multiplicité des combinaisons hybrides, chaque combinaison se faisant alors en un nombre plus limité d'exemplaires. On peut ainsi obtenir des combinaisons donnant de bons résultats sur un simple choix phénotypique des géniteurs, ou quelquefois par hasard comme on peut s'en rendre compte à l'examen de la généalogie de certaines variétés dans laquelle il est difficile de retrouver une démarche rationnelle suivie par le sélectionneur.

Ces façons de procéder laissant une part trop grande au hasard sont onéreuses. Il faut renoncer à juger un programme de sélection sur sa dimension, son côté spectaculaire mais rechercher son efficacité et sa rentabilité.

### C. — *Utilisation insuffisante des connaissances génétiques*

En dehors de quelques cas, l'utilisation des connaissances génétiques est à peu près nulle. Pourtant, les possibilités ne sont pas négligeables; en effet, plusieurs caractères à hérédité mendélienne simple ont un intérêt agronomique : couleur de la chair du fruit, caractère nectarine ou pavie, etc.... On peut imaginer sans difficulté des combinaisons susceptibles d'apporter une amélioration de certaines de ces formes.

Pour ce qui est des caractères à déterminisme polygénique, les potentialités

restent grandes car aucun d'entre eux n'a subi une sélection intensive. Cependant, les schémas de sélection qui résultent de l'analyse de ce mode d'hérédité ne sont pas faciles à transposer chez le Pêcher. Le sélectionneur de cette espèce n'a pas à s'intéresser à un seul caractère, le rendement par exemple; ses préoccupations sont beaucoup plus complexes, il doit, en effet, satisfaire plusieurs utilisateurs : le pépiniériste, l'arboriculteur, le distributeur et le consommateur, aux exigences quelquefois contradictoires ou délicates à analyser. Lorsqu'on demande, par exemple, à une pêche d'être attrayante, ce qualificatif est une appréciation subjective qui correspond à une association de caractères (forme, couleur du fruit) difficiles à inclure dans un index de sélection simple. Par ailleurs, ce qualificatif n'a pas la même valeur d'un pays à l'autre et d'une décennie à l'autre.

Dans quelques cas, cependant, lorsque l'objectif de sélection est très spécifique : amélioration de la résistance à un parasite, obtention de variétés ayant une aptitude particulière exigée pour la transformation, les démarches de la génétique quantitative devraient être un peu plus utilisées au moins dans leurs expressions les plus simples : héritabilité, corrélations.

### D. — *Collecte des informations négligeable*

Nous venons de voir que les connaissances génétiques sont le plus souvent négligées, elles sont aussi très peu développées.

En génétique formelle, les acquis ont toujours été présentés comme un sous-produit de la sélection; rarement d'ailleurs, le sélectionneur s'est astreint aux règles élémentaires qui lui auraient permis de progresser dans ce domaine : les formules génotypiques sont méconnues, les autofécondations et hybridations ne sont pas strictement contrôlées (pollinisations souvent libres), enfin, on se soucie peu de la perte des génotypes fragiles. Or, nous le verrons plus loin, à condition d'éviter les sélections précoces, on peut faire des études de génétique formelle en poursuivant un programme d'amélioration du Pêcher.

Pour ce qui est de la connaissance de la valeur propre des reproducteurs, celle-ci ne s'apprécie bien que sur la descendance obtenue par autofécondation; si les reproducteurs sont utilisés immédiatement dans des croisements non-systématiques, il est difficile de dire ce que chacun a apporté. Les sélectionneurs qui travaillent sur les arbres fruitiers commencent pourtant beaucoup plus volontiers par faire des hybridations (le vocabulaire utilisé est d'ailleurs significatif, on dit : un hybrideur, une parcelle d'hybrides), ceci ne permet en aucune manière d'acquérir une information sérieuse sur les géniteurs qui sont utilisés.

Enfin, les absences de données sont fréquentes lorsqu'il s'agit de rechercher l'ascendance d'un individu. Si, au début d'un programme de sélection, il n'y a aucune difficulté à retracer sa généalogie, il en est tout à fait autrement lorsque se sont écoulées plusieurs générations. L'ignorance que l'on peut avoir de l'ascendance d'un individu ne permet plus d'expliquer ses qualités ou ses défauts et, ce qui est plus dommageable, d'en calculer le coefficient de consanguinité.

On ne peut ainsi évaluer l'étendue des réserves génétiques sur lesquelles on travaille.

## III. — Les principes de la méthode

### A. — *Rôle fondamental de l'autofécondation*

a) *Justification tirée de l'analyse de l'évolution à long terme du coefficient de consanguinité des géniteurs*

L'influence de la sélection à des fins agronomiques sur l'espèce peut être perçue par l'analyse de l'évolution du coefficient de consanguinité des géniteurs; cette analyse suggère aussi la méthode que nous proposons.

A l'origine, les variétés de Pêcher provenaient d'isolats géographiques à l'intérieur desquels les individus se reproduisaient en consanguinité presqu'exclusive. Chaque individu de l'isolat avait un coefficient de consanguinité très élevé, proche de l'unité. Le greffage n'a pas modifié cette situation, il l'a, au contraire, cristallisée (on constate qu'en semis, les vieilles variétés se reproduisent souvent identiques à elles-mêmes).

Entre individus provenant d'isolats différents, le coefficient de parenté lui, était très faible (d'un isolat à l'autre, les échanges gamétiques étant rares). De ce fait, le croisement de variétés tirées d'isolats différents a produit des individus dont le coefficient de consanguinité devenait voisin de zéro (fig. 1).

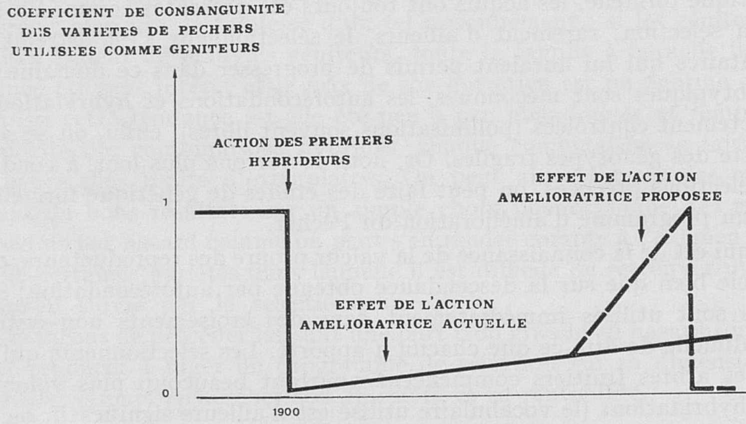



FIG. 1. — *En trait plein, évolution du coefficient de consanguinité des variétés utilisées comme géniteurs. Le trait discontinu figure ce que sera cette évolution si la méthode que nous préconisons est menée à son terme.*

L'action des premiers hybrideurs a été précisément de ramener le coefficient de consanguinité des variétés (et donc des futurs géniteurs) à un niveau très proche de zéro; ils ont bénéficié ainsi des effets d'hétérosis et ont obtenu des résultats spectaculaires dans l'amélioration du Pêcher.

Historiquement, ces premiers croisements ont été réalisés au début de ce siècle par les sélectionneurs américains.

Depuis lors, que s'est-il passé? Les sélectionneurs ont pratiqué, d'une façon désordonnée, hybridations entre variétés apparentées et autofécondations (fig. 2); il résulte de ceci que le coefficient de consanguinité des variétés s'élève lentement et l'on perd, peu à peu, l'effet d'hétérosis initial.

L'objectif d'un programme de sélection du Pêcher peut être de retrouver cet effet le plus vite possible. Pour cela, il faut accroître rapidement le niveau de

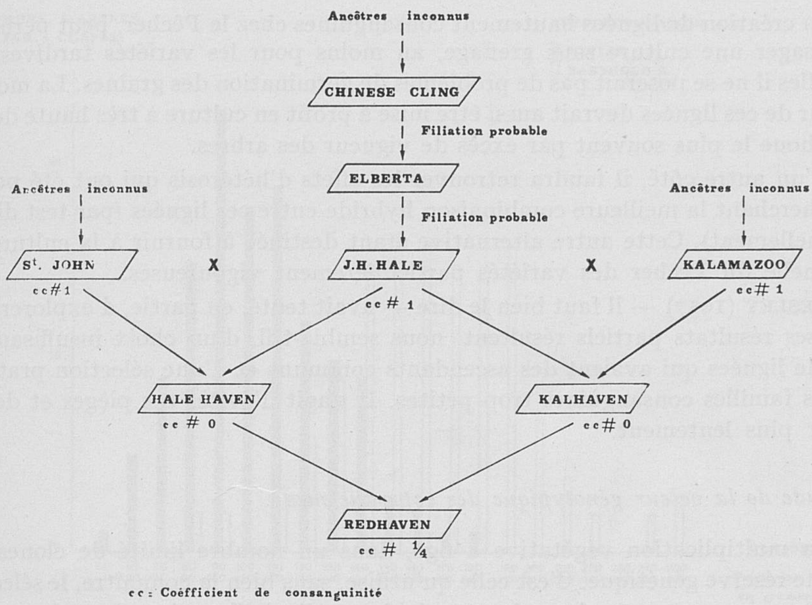



FIG. 2. — *Pédigree de « Redhaven » — Les parents de cette variété ont un ancêtre commun : « J. H. Hale ». En faisant l'hypothèse très vraisemblable que les coefficients de consanguinité de « St-John », « J. H. Hale » et « Kalamazoo » sont très peu différents de l'unité (variétés issues des isolats initiaux) et que les coefficients de parenté de ces variétés prises deux à deux dont très voisins de zéro (variétés n'ayant pas d'ancêtre commun) les coefficients de consanguinité de « Halhaven » et de « Kalhaven » sont nuls, le coefficient de consanguinité de « Redhaven » est de :* $\left(\frac{1}{2}\right)^1 \left(\frac{1}{2}\right)^1 \times \left(\frac{1}{2} + \frac{cc\ de\ « J.\ H.\ Hale »}{2}\right) \# \frac{1}{4}$. *Le coefficient de consanguinité des descendances par autofécondation de « Redhaven » serait très voisin de* $\frac{5}{8}$.

consanguinité des géniteurs tout en maintenant entre eux un coefficient de parenté faible, et refaire en fin de programme ce qu'ont fait les premiers hybrideurs, en l'occurence croiser des géniteurs hautement consanguins, non apparentés (fig. 1 - Pointillés). La supériorité de ces nouveaux géniteurs tiendra en ce qu'ils auront été enrichis par des caractères intéressants pour la culture. Ce projet reprend ainsi à son compte la méthode qui avait été adoptée dans la première phase de l'amélioration du Maïs.

D'un point de vue pratique, il s'agit de créer des lignées pures ou presque, en soumettant des variétés ayant des origines génétiques très différentes à des

cycles répétés d'autofécondation, chaque cycle se faisant à partir des deux ou trois meilleurs individus du cycle précédent. Grâce à la période juvénile relativement courte du Pêcher, la création de lignées d'un haut niveau d'homozygotie peut se faire dans un délai satisfaisant. Par ailleurs, du fait de l'autogamie préférentielle de l'espèce, les autofécondations répétées ne semblent pas entraîner d'effet dépressif trop grave. Nous possédons quelques familles ayant atteint le troisième cycle d'autofécondation qui, bien que moins vigoureuses que les variétés dont elles ont été tirées, conservent tout de même une bonne vitalité.

La création de lignées hautement consanguines chez le Pêcher, peut permettre d'envisager une culture sans greffage, au moins pour les variétés tardives chez lesquelles il ne se poserait pas de problèmes de germination des graines. La moindre vigueur de ces lignées devrait aussi être mise à profit en culture à très haute densité qui échoue le plus souvent par excès de vigueur des arbres.

D'un autre côté, il faudra retrouver les effets d'hétérosis qui ont été perdus, en recherchant la meilleure combinaison hybride entre ces lignées (par test diallèle éventuellement). Cette autre alternative étant destinée à fournir à la culture traditionnelle du Pêcher des variétés particulièrement vigoureuses.

LESLEY (1957) — il faut bien le dire — avait tenté, en partie, d'explorer cette voie; ses résultats partiels résultent, nous semble-t-il, d'un choix insuffisant des têtes de lignées qui avaient des ascendants communs et d'une sélection pratiquée sur des familles consanguines trop petites. Il s'agit d'éviter ces pièges et de progresser plus lentement.

b) *Étude de la valeur génotypique des reproducteurs*

La multiplication végétative a figé, dans un nombre limité de clones, une certaine réserve génétique. C'est celle qu'utilise, sans bien la connaître, le sélectionneur; à moins que, pour des raisons spécifiques, il n'aille puiser dans des sources naturelles nouvelles, ce qui va faire regresser la valeur culturale moyenne de ces sélections.

L'autofécondation est un moyen de révéler cette réserve génétique (et ce sera sans perte puisque le clone qui est autofécondé n'est pas nécessairement détruit); elle donne aussi une information sur l'aptitude de chaque clone à transmettre ses caractères.

Pour justifier l'intérêt que présente l'autofécondation en tant que révélateur de cette réserve génétique, nous présentons dans la figure 3 la répartition des individus obtenus par l'autofécondation de deux variétés pavies : « Vivian » et « Babygold 9 », selon le poids moyen des fruits. Ces deux familles sont nettement distinctes par leurs caractéristique de valeur centrale et par leur caractéristique de dispersion. Les descendants de « Vivian » portent en général des petits fruits, ceux de « Babygold 9 », au contraire, ont de gros fruits; de plus, cette variété possède une réserve génétique plus grande pour le caractère que nous avons pris en considération.

De tels histogrammes peuvent être établis pour d'autres caractères; on peut recueillir ainsi un ensemble d'informations précieuses pour le choix des reproducteurs.

L'autofécondation a un autre avantage, elle permet une exploitation immédiate de recombinaisons lorsque la variété qui y est soumise possède un haut degré d'hétérozygotie, c'est-à-dire lorsqu'elle est issue, sans nulle autre intervention, du travail des premiers hybrideurs. Nous avons isolé, en effet, dans certaines de nos familles, des individus supérieurs à leur parent et pouvant prétendre le remplacer (c'est le cas des variétés : « Baladin » et « Babiole » que nous allons diffuser auprès

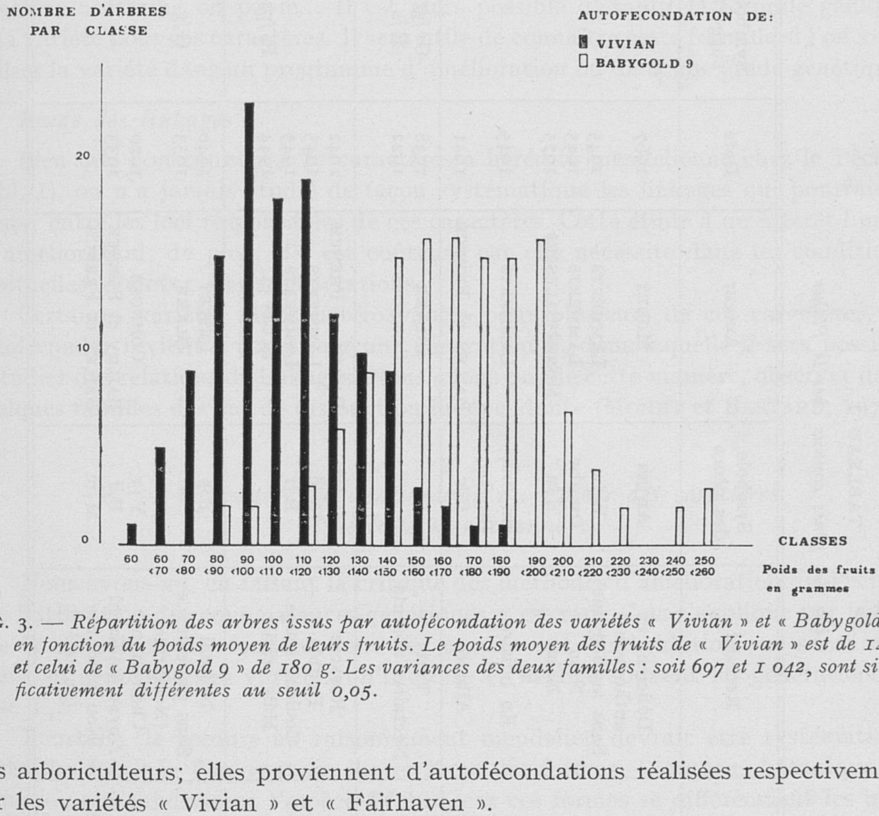



FIG. 3. — *Répartition des arbres issus par autofécondation des variétés « Vivian » et « Babygold 9 » en fonction du poids moyen de leurs fruits. Le poids moyen des fruits de « Vivian » est de 140 g et celui de « Babygold 9 » de 180 g. Les variances des deux familles : soit 697 et 1 042, sont significativement différentes au seuil 0,05.*

des arboriculteurs; elles proviennent d'autofécondations réalisées respectivement sur les variétés « Vivian » et « Fairhaven ».

Il y a là, un moyen rapide de créer de nouvelles variétés et de rentabiliser un programme dont le but ultime se situe à plus long terme.

c) *L'autofécondation est un moyen rapide de faire des études de génétique formelle sur le Pêcher*

*Recherche de mutants*

Les caractères affectés par une mutation étant généralement récessifs, on peut penser que certaines variétés sont hétérozygotes pour des caractères nouveaux résultant d'une mutation spontanée. L'autofécondation est le meilleur moyen d'extérioriser ces caractères et donc d'accroître la liste des gènes connus de l'espèce. C'est ainsi que nous avons pu découvrir par autofécondation un nouveau type de

TABLEAU I

*Liste des gènes connus chez le Pêcher*

| | Dominant | Recessif | Symbole des gènes | Auteur | Date | Symboles suggérés | Remarques |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Caractères de l'arbre | Normal | Déficient en anthocyanes | An/an | MONET | 1967 | | |
| | Normal | Sans anthocyane | W/w | LAMMERTS | 1945 | | |
| | Normal | Nain | Dw/dw | LAMMERTS | 1945 | | |
| | Normal | Nain | N/n | MONET-SALESSES | 1975 | | Dominance incomplète |
| | Normal | En buisson | $Bu_1/bu_1$ $Bu_2/bu_2$ | LAMMERTS | 1945 | | |
| | Normal | Albinos | C/c | BAILEY et FRENCH | 1941 | | Caractère létal |
| Feuillage | Rouge | Vert | | BLAKE | 1938 | Gr/gr | |
| | Nectaires réniformes | Nectaires absents | | CONNORS | 1922 | E/e | Dominance incomplète |
| Fleur | Campanulée | Rosacée | Sh/sh | BAILEY et FRENCH | 1942 | | |
| | Simple | Double | $D_1/d_1$ | LAMMERTS | 1945 | | |
| | Couleur rose | Couleur rouge | R/r | LAMMERTS | 1945 | | |
| | Mâle fertile | Mâle stérile | | SCOTT et WEINBERGER | 1944 | Ps/ps | |
| Fruit | Aplati | Normal | S/s | LESLEY | 1940 | | |
| | Normal | Sans pubescence (Nectarine) | | BLAKE | 1933 | G/g | |
| | Chair blanche | Chair jaune | Y/y | CONNORS | 1920 | | |
| | Noyau libre | Noyau adhérent | F/f | BAILEY et FRENCH | 1933 | | Non définitif |
| | Chair fondante | Non fondante (pavie) | M/m | BAILEY et FRENCH | | | Non définitif |

nanisme chez le Pêcher qui pourrait être très intéressant pour la culture (Monet et Salesses, 1975).

*Révélation de l'état hétérozygote des variétés pour certains caractères à hérédité mendelienne simple*

Ceci n'est qu'un cas particulier de l'étude de la valeur génotypique d'une variété. L'autofécondation montre que plusieurs d'entre elles sont hétérozygotes pour des caractères mendeliens déjà connus : couleur de la chair, type de fleur, caractère nectarine ou pavie... Il est alors possible d'établir la formule génique de la variété pour ces caractères. Il sera utile de connaître cette formule si l'on veut utiliser la variété dans un programme d'amélioration ou dans une étude génétique.

*Étude des linkages*

Bien que l'on connaisse 17 caractères à hérédité mendelienne chez le Pêcher (tabl. I), on n'a jamais étudié de façon systématique les linkages qui pourraient exister entre les loci responsables de ces caractères. Cette étude a un intérêt limité en amélioration; de plus, elle est coûteuse car elle nécessite dans les conditions habituelles d'élever deux générations.

Certaines variétés étant hétérozygotes pour plusieurs de ces caractères, les autoféconder revient à constituer une génération $F_2$ dans laquelle il sera possible d'étudier des relations de linkages. Nous avons pu, de cette manière, observer dans quelques familles des cas de disjonction indépendante (Monet et Bastard, 1972).

### B. — *Utilisation en amélioration du Pêcher des caractères à hérédité mendelienne*

Nous avons vu, en faisant la critique des méthodes d'amélioration du Pêcher, que l'utilisation des connaissances génétiques y est rare. Cela s'explique par le fait que le sélectionneur, fondant tous ses espoirs sur l'hybridation, ne s'intéresse guère au génotype des variétés qu'il croise et néglige souvent les générations de type $F_2$.

Pourtant, le recours au raisonnement mendelien devrait être systématique toutes les fois que l'on veut améliorer l'une des formes — au sens botanique du terme — qui subdivisent l'espèce Pêcher, car ces formes se différencient les unes des autres par un caractère le plus souvent à déterminisme monogénique (tabl. I).

Les meilleurs progrès n'ont pas été acquis lorsque le sélectionneur a travaillé à l'intérieur de ces formes pour les améliorer : chairs jaunes croisées entre elles pour obtenir des chairs jaunes améliorées, nectarines croisées entre elles pour obtenir des nectarines plus grosses, mais bien lorsqu'il s'est souvenu que leur hérédité était simple et que l'on pouvait aller prendre à d'autres formes les caractères qui leur manquaient.

Nous irons plus loin, nous pensons que certaines de ces formes qui n'ont fait l'objet encore d'aucune amélioration, parce que leurs fruits sont trop éloignés de ceux que l'on a l'habitude de consommer, ou que le port de l'arbre paraît trop aberrant pour être utilisé en culture, risque d'être, si on les améliore, des éléments de renouvellement pour le consommateur ou de progrès pour la culture : nous

pensons aux fruits plats, incolores, aux pêchers à port pleureur. Il faut s'attacher à améliorer, dans des programmes spécifiques, ces formes qui ne sont encore que des curiosités botaniques pour pouvoir proposer à plus ou moins long terme des variétés originales.

### C. — *Établissement des filiations selon la méthode pédigree*

La connaissance des filiations étant très importante non seulement pour rechercher l'origine des caractères d'un individu, mais aussi pour calculer, à chaque étape de la sélection, le coefficient de consanguinité d'un géniteur, il est nécessaire de repérer non seulement les familles mais surtout les individus (leur valeur est, du

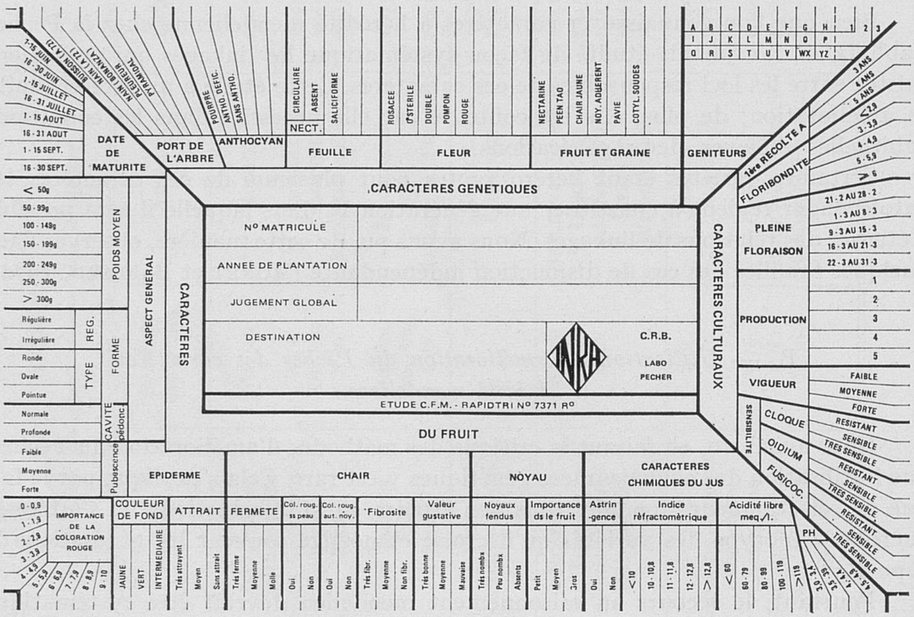



FIG. 4. — *Exemple de fiche à encoches marginales*

fait de la multiplication végétative, plus importante que dans d'autres espèces) par un système qui permette de retrouver facilement son pédigree. Ces règles élémentaires ne sont pas toujours observées, nous l'avons constaté à maintes reprises. Dans notre laboratoire, nous avons recours à un numérotage rappelant le ou les géniteurs qui ont donné naissance à la famille; dans la famille, chaque arbre possède un numéro d'ordre arbitraire qui permet simplement de l'identifier. Les caractères de chaque individu sont rassemblés en fin d'étude sur une fiche descriptive de synthèse à encoches marginales (fig. 4) qui permet, à moindre frais, une étude rapide des descendances.

Sur la fiche, sont bien séparés les caractères à hérédité simple que l'on utilise pour les études génétiques des caractères agronomiques intéressants pour le sélectionneur.

## IV. — Rappel des grandes lignes de la méthode

Après avoir tenté de donner une justification de notre méthode, nous en rappellerons de manière simple, les grandes lignes.

1) Pour retrouver, à long terme, les effets d'hétérosis, on s'efforcera de constituer des lignées consanguines en soumettant à plusieurs cycles d'autofécondation des géniteurs qui auront été choisis, au départ, pour leur intérêt cultural et leur faible coefficient de parenté.

2) Le premier cycle d'autofécondation sera mis à profit pour révéler les potentialités génétiques des géniteurs et exploiter immédiatement les recombinaisons qui seront source de nouvelles variétés.

3) Grâce à un contrôle rigoureux des géniteurs et en l'absence d'une sélection précoce, les études génétiques sur le Pêcher seront développées : recherche de formes mutantes spontanées, établissement de formules géniques, étude de linkages.

4) L'amélioration de certaines formes présentant un caractère original à déterminisme génétique simple sera entreprise.

5) Toutes les descendances seront repérées selon la méthode pédigree de façon à pouvoir établir, à chaque étape de la sélection, l'origine d'un individu et son coefficient de consanguinité. Chaque arbre possèdera une fiche descriptive sur laquelle figureront ses caractères génétiques et culturaux. Ces fiches seront regroupées et analysées par familles.

## Discussion et conclusion

La méthode que nous proposons résulte d'une réflexion sur les particularités génétiques et biologiques du Pêcher. Il n'est pas sûr qu'elle soit transposable, sans risque, à d'autres espèces fruitières.

Nous sommes conscient par ailleurs qu'elle n'est pas parfaite; le principal reproche que l'on puisse nous faire est de travailler sur un stock génétique limité puisqu'il est tiré essentiellement des variétés existantes et que, de plus, il risque de s'appauvrir par l'autofécondation suivie de choix.

Cette critique majeure peut être atténuée par quelques remarques :

Pour ce qui est du matériel de départ, il n'est pas certain qu'il soit aussi pauvre qu'on pourrait le penser car l'étude des ascendances des variétés montre que les premiers sélectionneurs avaient puisé dans des sources génétiques très variées.

Pour ce qui est de la technique elle-même, l'emploi d'autres méthodes, qui s'efforceraient de maintenir la variabilité génétique à un niveau élevé, n'est pas aussi sans inconvénient.

Le premier de ceux-ci tient à la régression de la valeur culturale du matériel de base si l'on y insère des géniteurs proches de l'état sauvage. Cette régression

va accroître considérablement le délai pour obtenir les nouvelles variétés; ceci ne peut laisser indifférent lorsqu'on améliore des espèces à cycle sexuel assez long, à moins (et ce n'était pas notre cas) qu'il soit accepté dès le départ que le programme ne sera productif que dans un avenir très lointain. Cette option peut être prise dans des cas bien précis : nous pensons, par exemple, à l'amélioration de la résistance à un parasite.

Le deuxième risque, lié nous semble-t-il aux méthodes susceptibles de maintenir la variabilité génétique et de favoriser les recombinaisons, est qu'il faille renoncer aux études génétiques. De telles méthodes éminemment synthétiques sont moins aptes à l'analyse. Si chez les plantes annuelles on peut mener simultanément une étude génétique et un programme d'amélioration grâ e à leur faible encombrement et à leur cycle sexuel court, chez les espèces arbustives vivaces, il n'en est plus de même; on accepte le plus souvent de sacrifier les acquisitions génétiques au programme d'amélioration. Cette situation n'est pas rationnelle car on se prive d'informations qui pourraient permettre de nouveaux progrès.

Notre méthode associe ces deux projets différents; essentiellement analytique, elle devrait aussi faire mieux apprécier la variabilité que recèle l'espèce et en ce sens contribuer à sa connaissance.

*Reçu pour publication en août 1976.*

## Summary

*Peach Breeding — Account of a method*

In traditional methods of Peach breeding, the parents are chosen according to phenotype. Chance variation being very high, we must work with large number of offsprings in order to select rare exceptional individuals.

Poor utilisation is made of genetic knowledge, few attempts are made to acquire further information.

The method we proposed is based on a analysis of the inbreeding coefficient of the parents. Our studies suggest that, in order to recover allelic interactions, it is necessary: first, to create unrelated consanguinous lines and second, to cross these lines.

The method involves selfcrossing and allows us to deduce the genotypic value of the parents as well as to do genetic studies.

The offsprings must be carefully observed and catalogued, the pedigree must be established at each level of selection.

## Références bibliographiques

HESSE C. O., 1975. *Advances in fruit breeding.* p. 285-335, J. JANICK et J. N. MOORE (Ed.). Purdue University Press, West Lafayette, Indiana.

LESLEY J. W., 1957. A genetic study of inbreeding and of crossing inbred lines of peaches. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **70**, 93-103.

MONET R., BASTARD Y., 1972. Contribution à l'étude du contrôle génétique de quelques caractères morphologiques chez le Pêcher. *Ann. Amélior. Plantes*, **22** (4), 399-403.

MONET R., SALESSES G., 1975. Un nouveau mutant de nanisme chez le Pêcher. *Ann. Amélior. Plantes*, **25** (3), 353-359.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977 **27**, (2), 235-243.

# Recherches sur l'origine de deux pruniers porte-greffes hybrides interspécifiques naturels : un exemple d'étude cytologique développée pour la création de porte-greffes nouveaux chez les pruniers

G. SALESSES
avec la collaboration technique de A. BONNET.

*Station de Recherches d'Arboriculture fruitière,*
*Centre de Recherches de Bordeaux, I.N.R.A.,*
*33140 Pont-de-la-Maye*

## Résumé

L'une des voies de création de porte-greffes nouveaux est la synthèse de « copies génomiques » de types intéressants et commercialisés mais dont l'origine est méconnue. Les études présentées portent sur deux porte-greffes I.N.R.A. : « Marianna GF 8-1 » et « Damas 1869 ». Il s'agit de deux hybrides interspécifiques : l'un, autotriploïde, est issu de la fécondation d'un ovule anormal diploïde de « Marianna », l'autre, pentaploïde, résulte d'une hybridation entre un prunier hexaploïde cultivé et le Prunellier, *P. spinosa* (4*x*).

Cette origine étant précisée, il est possible de créer un matériel végétal, copie génomique de ces porte-greffes, en vue de la sélection de types nouveaux améliorés.

## Introduction

La création de porte-greffes nouveaux reste en arboriculture fruitière l'un des moyens les plus efficaces et les plus rapides quand il s'agit d'élargir l'aire de culture d'une espèce et de diversifier les productions dans une exploitation fruitière.

Des besoins importants sont nés, surtout pour le Pêcher, du fait de l'extension de la culture de cette espèce et des risques liés aux grandes variations de la pluviométrie hivernale (asphyxie radiculaire).

Après avoir exploité la variabilité génétique du matériel végétal existant, on a cherché par hybridation interspécifique, à élargir cette variabilité pour permettre la sélection de porte-greffes nouveaux.

Dans le cadre des études entreprises sur la cytologie et l'hybridation interspécifique chez les pruniers (SALESSES 1967, 1968, 1970, 1973) notre but, en ce qui concerne la création de porte-greffes, est d'orienter les programmes d'hybridation en fonction des connaissances acquises.

Deux voies essentielles peuvent être envisagées :

1) Étude de liaisons éventuelles entre composition chromosomique et certaines caractéristiques agronomiques (vigueur, compatibilité au greffage, tolérance à l'asphyxie radiculaire...).

2) Création d'hybrides « copies génomiques » de porte-greffes existants.

Pour cette deuxième voie, une première étape est constituée par des observations visant à préciser l'origine génétique et par là même la composition chromosomique de ces porte-greffes.

C'est dans cette optique que nous avons cherché à préciser l'origine de deux porte-greffes sélectionnés par la station I.N.R.A. de Bordeaux, largement commercialisés : « Damas 1869 », et « Marianna GF 8-1 ».

L'exposé des données acquises en ce qui les concerne et des perspectives qu'elles offrent font l'objet du présent mémoire.

## I. — Étude de « Damas 1869 »

### *Aspects morphologique et agronomique*

Ce prunier repéré à Cabannes (France) a été introduit à la Station de Recherches d'Arboriculture fruitière sous l'appellation « *domestica* à grandes feuilles planes » en 1953. Il s'est très rapidement avéré intéressant comme porte-greffe pour le Pêcher en sol assez lourd et chlorosant; sa tolérance à l'asphyxie radiculaire, sa résistance à la Rouille et au Chancre bactérien, la vigueur qu'il confère en pépinière pendant les premières années, en sont les qualités essentielles. Son incompatibilité au greffage avec la plupart des variétés de nectarine et son drageonnement assez important, constituent cependant deux défauts non négligeables.

Ses caractéristiques morphologiques sont très proches de celles des pruniers hexaploïdes; certains aspects de son comportement le désignaient cependant comme un représentant assez particulier.

### *Aspect cytologique*

Dès que la mise au point d'une technique d'étude des chromosomes en mitose l'a permis, le dénombrement chromosomique révéla que ce prunier commercialisé comme représentant du groupe hexaploïde — *P. insititia* — était en fait un individu pentaploïde ($2n = 5x = 40$) : il s'agissait bien selon toute vraisemblance d'un hybride interspécifique. Ce prunier présente des caractéristiques très voisines du « Damas de Toulouse », porte-greffe longtemps considéré comme appartenant à l'espèce *P. insititia*.

Son identite morphologique avec les pruniers hexaploïdes, ses fruits bleu-foncé

à chair astringente et noyau adhérent et sa faculté à drageonner, constituent dès lors, une forte présomption pour une origine :

(1) P. hexaploïde — *domestica* ou *insititia* — × *P. spinosa* (4*x*).

Les observations cytologiques réalisées dans le cadre d'un travail plus général (Salesses, 1973) permettent une comparaison des comportements méiotiques entre divers hybrides artificiels (*domestica* ou *insititia* 6*x* × *spinosa* 4*x*) et cet hybride baptisé « Damas 1869 ».

Les résultats essentiels de ces analyses cytologiques figurent dans le tableau 1.

TABLEAU 1

*Comportements méiotiques moyens de « Damas 1869 » et de quelques hybrides artificiels pentaploïdes*

| | | Nombre cellules analysées | Nombre moyen d'associations par cellule | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | I | II | III | IV | V |
| P. hexaploïde × *P. spinosa* (4*x*) | 742 × 106 .. | 162 | 6,74 | 15,70 | 0,58 | 0,014 | — |
| | 253 × 24 .. | 62 | 7,41 | 15,11 | 0,45 | 0,090 | — |
| | 332 × 24 .. | 79 | 8,01 | 14,73 | 0,14 | 0,011 | — |
| | 332 × 106 .. | 38 | 7,23 | 15,43 | 0,76 | — | — |
| | 2 036 × 106 .. | 84 | 6,60 | 15,27 | 0,93 | — | — |
| P. hexaploïde × *P. cerasifera* NR (P. 332 × P. 31)7 .......... | | 23 | 3,87 | 13,34 | 2,69 | 0,24 | 0,043 |
| « Damas 1869 » ............ | | 69 | 6,89 | 15,80 | 0,37 | 0,07 | — |

L'examen de celui-ci fait apparaître aisément que « Damas 1869 » a un comportement méiotique très comparable à celui des cinq groupes hybrides étudiés.

Les anomalies rencontrées chez ces divers hybrides pentaploïdes observés et déjà signalées dans une autre étude (Salesses, 1973), à savoir bivalents retardataires, division précoce d'univalents, formation de gamètes mâles fonctionnels à $n = 24$, sont aussi notées avec une fréquence comparable chez le porte-greffe étudié.

Un tel individu pentaploïde peut être le résultat en fait, chez les pruniers, de deux autres hybridations :

(2) P. hexaploïde (6*x*) × *P. cerasifera* (2*x*) non réduit.

(3) *P. spinosa* (4*x*) non réduit × *P. cerasifera*.

Ces deux hypothèses paraissent moins plausibles que celle qui a été avancée plus haut (1) du fait de l'intervention de gamètes non réduits dont la production est très peu fréquente (Salesses, 1973). L'hybridation (3) conduit à une composition chromosomique identique (SS $S_1S_1$ CC) si l'on considère l'hypothèse de Crane et Lawrence (Salesses, 1973) alors que les hybrides nés de la deuxième (2)

présentent un comportement méiotique nettement différent (2,69 III par cellule) du comportement moyen et des hybrides pentaploïdes artificiels analysés et de « Damas 1869 » (cf. tabl. 1).

Il est donc permis de considérer en l'état actuel de nos études que « Damas 1869 » est issu d'une hybridation naturelle entre un prunier hexaploïde et le prunellier, *P. spinosa* : il n'est pas rare d'ailleurs de repérer dans les descendances des pruniers hexaploïdes en fécondation libre, des plantules pentaploïdes.

Certes, une étude des caractéristiques morphologiques des espèces mises en cause et des hybrides interspécifiques renforcerait les conclusions de ce travail, mais cela reste très délicat du fait de la variabilité importante existant au sein même des espèces.

### *Perspectives offertes*

L'origine de ce porte-greffe étant connue, il a été possible de créer des hybrides « copies génomiques » de cet hybride qui nous intéresse tout particulièrement dans le cadre de la recherche de porte-greffes tolérants à l'asphyxie radiculaire : ce programme d'hybridation entrepris à partir de plusieurs « souches » de pruniers hexaploïdes et de prunelliers, a donné naissance à de nombreux hybrides en cours d'étude : des essais visant principalement la tolérance à l'asphyxie et la compatibilité au greffage avec l'espèce Pêcher sont actuellement en place.

Les observations réalisées jusqu'ici permettent de penser qu'il sera possible de sélectionner dans ce groupe des porte-greffes ayant les qualités de « Damas 1869 », une meilleure compatibilité avec les nectarines et une moindre faculté à drageonner.

## II. — Étude de « Marianna GF 8-1 »

### *Considérations générales*

Ce plant de semis a été repéré dans la descendance issue de la fécondation libre du prunier diploïde ($2n = 2x = 16$) « Marianna ». Ce dernier a une origine très controversée : selon Bailey (1944) ce serait un hybride interspécifique impliquant les espèces *cerasifera* d'une part et *hortulana* ou *angustifolia* d'autre part. Day (1953) et Glenn (1961) le considèrent comme un hybride entre *cerasifera* et *munsoniana*; si l'on en croit Hedrick (1910), « « Marianna » serait un plant de semis récolté dans un verger plurivariétal, son obtenteur le considérant comme issu de la variété « Wild Goose » (*munsoniana*) mais c'est probablement un descendant de *P. cerasifera* et sans nul doute un hybride ». Cet avis est partagé par l'ensemble des auteurs. Enfin, Grasselly (communication personnelle) pense qu'il pourrait s'agir d'un hybride (*cerasifera* × *injucunda*).

Ses qualités sont multiples et expliquent son utilisation comme porte-greffe à l'état diploïde : résistance aux nématodes, tolérance au Crown-Gall, résistance à l'asphyxie radiculaire, facilité de bouturage malgré une vigueur parfois insuffisante.

La descendance de ce prunier diploïde, après fécondation libre, est très hétérogène, son taux de ploïdie variant généralement de $2x$ à $5x$ et exceptionnellement $6x$ à $7x$; le porte-greffe « GF 8-1 », triploïde, est l'un de ces descendants : il est largement commercialisé pour les espèces Prunier et Abricotier. Très vigoureux, il conserve la majorité des qualités du prunier diploïde « Marianna ».

*Aspects cytologique et embryologique*

Le comportement méiotique de « GF 8-1 » est présenté dans le tableau 2, comparativement au comportement moyen d'hybrides triploïdes artificiels (*P. spinosa* × *P. cerasifera*) : il est caractérisé par la fréquence relativement élevée

TABLEAU 2

*Comportements méiotiques moyens du prunier « GF 8-1 » et d'hybrides triploïdes artificiel* (spinosa × cerasifera).

| | Nombre de cellules | Nombre moyen d'associations par cellules | | |
|---|---|---|---|---|
| | | I | II | III |
| GF 8-1 .......................... | 50 | 2,18 | 3,12 | 5,14 |
| Hybrides triploïdes (*spinosa* × *cerasifera*) .......................... | 430 | 5,03 | 4,91 | 2,47 |

des associations trivalentes (fig. 1) et doit être considéré, chez les Prunus, comme celui d'un individu autotriploïde; il est intéressant en effet de noter que 5 cellules sur 50 analysées présentent 8 trivalents et que le comportement de tous les allotriploïdes étudiés chez les pruniers (*P. spinosa* × *P. cerasifera* ou *P. salicina*) est très différent, en particulier en ce qui concerne le nombre moyen de trivalents par cellule (1,90 à 3,40) (SALESSES, 1973).

Le seul fait certain est que « Marianna » est le parent femelle de « GF 8-1 ».

Plusieurs voies sont alors possibles pour expliquer la formation d'un individu triploïde :

— gamète ♀ « Marianna » × gamète ♂ *spinosa* ($x = 16$).
— gamète ♀ « Marianna » × gamète ♂ non réduit de *cerasifera* ou « Marianna ».
— gamète ♀ non réduit « Marianna » × gamète ♂ « Marianna » ou *cerasifera*.

Le prunier « Marianna » étant autostérile, ce qui est confirmé par les travaux de HURTER (1969), les processus faisant intervenir une autofécondation peuvent être éliminés.



FIG. 1. — *Méiose chez « Marianna GF 8-1 »* ($2n = 3x = 24$)

a) 7III, 1II, 1I
b) 8III, 2II, 2I.

La première voie faisant appel à *spinosa* peut être écartée aussi, étant donné essentiellement la faible coïncidence de floraison des deux pruniers et surtout le fait que les hybrides triploïdes impliquant *spinosa* ont des caractéristiques très particulières n'existant pas chez « GF 8-1 ».

Par ailleurs, il est intéressant de signaler que la sélection de cet hybride « GF 8-1 » dans un semis hétérogène de *P. marianna*, entouré de nombreux pruniers *cerasifera*, a été basée en partie sur des caractéristiques végétatives se rapprochant nettement, à l'état de jeune plant, de cette dernière espèce (BERNHARD, communication personnelle).

Deux hypothèses restent alors possibles :

1) gamète ♀ « Marianna » × *cerasifera* non réduit,
2) gamète ♀ « Marianna » non réduit × *cerasifera* normal.

Seule la deuxième peut raisonnablement être retenue compte tenu de la prédominance des caractères de « Marianna » diploïde, chez l'hybride 8-1.

Le comportement méiotique noté est parfaitement en accord avec cette déduction : en effet *P. cerasifera* étant l'un des parents du *Marianna* diploïde il est normal de noter une homologie entre les trois stocks en présence chez l'hybride 8-1, d'autant que l'on sait d'après les travaux de HURTER et nos propres observations que « Marianna » diploïde a un comportement méiotique régulier dénotant une bonne homologie entre *cerasifera* et la deuxième espèce parente de « Marianna ».

La production de gamètes non réduits par « Marianna » diploïde est parfaitement en accord avec les observations embryologiques réalisées par HURTER (1969); ce dernier a pu mettre en évidence, chez ce prunier, une anomalie intéressante au cours de la formation du sac embryonnaire : les quatre noyaux issus de la méiose se trouvent placés au hasard dans la cellule mère allongée du sac embryonnaire, au lieu de donner naissance à une tétraspore cloisonnée : cette formation a été dénommée cœnomégaspore par MAHESHWARI (1950). Ces noyaux peuvent alors fusionner (HURTER, 1969) et conduire à des coenomégaspores pouvant avoir les constitutions suivantes :

$$x + x + x + x$$
$$2x + x + x$$
$$2x + 2x$$
$$3x + x$$
$$4x$$

Ces types peuvent donc donner naissance suivant les cas à des gamètes femelles normaux, di, tri ou tétraploïdes qui, fécondés par ceux d'une espèce diploïde (expérience de HURTER, 1969) peuvent produire des individus dont le taux de ploïdie varie de 2 à $5x$.

De telles anomalies ont déjà été évoquées (SALESSES, 1973) pour expliquer l'apparition d'individus polyploïdes et aneuploïdes, après fécondation libre d'hybrides interspécifiques triploïdes.

### *Perspectives offertes*

Ces considérations sur l'origine du porte-greffe « GF 8-1 » qui découlent de données tant embryologiques (HURTER, 1969) que cytologiques, permettent d'envisager à partir du « Marianna » diploïde, par pollinisation contrôlée avec des types diploïdes pouvant apporter des caractères intéressants, la synthèse de porte-greffes nouveaux à taux de ploïdie variable donc certainement de vigueur variable mais qui devraient conserver d'après le processus de formation précédemment discuté, l'essentiel des qualités du parent femelle « Marianna ».

Après avoir réintroduit cette espèce sous la forme d'individus exempts des principales viroses connues, nous envisagerons plus particulièrement d'utiliser certains pruniers japonais, hybrides diploïdes dont la base génétique est *P. salicina* comme pollinisateur de « Marianna », afin d'exploiter une source de tolérance à l'asphyxie radiculaire récemment mise en évidence dans ce groupe diploïde et qui, chez la plupart des hybrides interspécifiques réalisés, se transmet généralement comme un caractère dominant.

## Conclusion

L'hybridation interspécifique a été utilisée bien avant le développement des recherches cytologiques en arboriculture fruitière : citons par exemple la création d'hybrides Amandier × Pêcher, porte-greffes du Pêcher en sol chlorosant.

Pour répondre à des besoins précis, les recherches cytologiques étant développées pour d'autres objectifs (SALESSES 1970, 1973) il s'est avéré intéressant d'utiliser les connaissances acquises pour la création de porte-greffes nouveaux; de tels programmes, difficiles et longs à mettre en œuvre quand il s'agit d'amélioration ou de création variétales peuvent déboucher rapidement, en arboriculture fruitière : en effet grâce aux possibilités de multiplication végétative, tout individu jugé valable, quel que soit son équilibre chromosomique, serait utilisable.

A partir de là, les données cytologiques acquises doivent permettre la mise en œuvre des seuls programmes logiques pour lesquels les méthodes, les chances de succès mais aussi les limites sont connues.

Les données présentées dans ce mémoire ainsi que les considérations développées quant aux perspectives qu'elles offrent, constituent un exemple pour montrer l'esprit dans lequel sont développées les recherches cytologiques en arboriculture fruitière et l'aide qu'elles peuvent apporter dans l'amélioration des méthodes.

*Reçu pour publication en septembre 1976.*

## Remerciements

L'auteur tient à remercier Mme DOSBA et M. DUMAS DE VAULX qui ont bien voulu se charger de la lecture du manuscrit.

## Summary

*Researches about the origin of two* Prunus *root-stocks, natural interspecific hybrids : an illustration of a cytological study carried out in order to create new* Prunus *root-stocks*

« Genomic copies » synthesis of individuals yet traded but the origin of which is unknown is a way to create new root-stocks.

The cytological study of two well-known types : « Marianna GF 8-1 » and « Damas 1869 », allows to state precisely their origin and to consider such synthesis.

Both interspecific natural hybrids, one is an autotriploid coming from the fertilization of a diploid « Marianna» abnormal ovule, the other is a pentaploid issued from cross between an hexaploid cultivated plum tree and a sloe, *P. spinosa* (4*x*).

## Références bibliographiques

BAILEY, L.-H., 1944. *The Standard Cyclopedia of Horticulture, vol. III.* Mac Millan co. New York.

BERNHARD R. *Station d'Arboriculture Fruitière — Centre de Recherches de Bordeaux* (Communication personnelle).

DAY L.-H., 1953. Rootstocks for stone fruits. *Bull. Calif. agric. exp. Stat. ext. Service*, **736**.

GLENN E.-M., 1961. Rootstocks for plums. *Rep. E. Malling Res. Stat.*, 130-131.

GRASSELLY Ch. *Station d'Arboriculture Fruitière — Centre de Recherches de Bordeaux*, (Communication personnelle).

HEDRICK U.-P., 1910. *The plums of New York.* Albany J.-B. LYON, Co, State Printers.

HURTER N., 1969. Cytogenetics studies on the Marianna plum rootstocks. *Thesis Doctor Phylosophy (Agriculture) Stellenbosch Univer. (S. Africa).*

SALESSES G., 1967. Mise au point d'une méthode de comptage des chromosomes chez les arbres fruitiers à noyau. *Ann. Amélior. Plantes*, **17** (2), 207-210.

SALESSES G., 1968. Études caryologiques et cytogénétique chez les pruniers. Leur intérêt pour un éventuel programme d'hybridation interspécifique, *Réunion du groupe de travail génétique et amélioration du Prunier*, Bucarest, juin 1968. Acta Hort., **10**, 157-174.

SALESSES G., 1970. Études cytologiques chez les *Prunus*. I. — Espèces de la section *Euprunus*. *Ann. Amélior. Plantes*, **20**, (4), 469-483.

SALESSES G., 1973. Études cytologiques chez les *Prunus*. II. — Hybrides interspécifiques impliquant *P. cerasifera*, *P. spinosa*, *P. domestica* et *P. insititia*. *Ann. Amélior. Plantes*, **23** (2), 145-161.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (2), 245-253.

# Essai de transmission par la graine de viroses de la Vigne (Court-noué, Marbrure)

J. P. DOAZAN et Hélène BELLEGARDE

avec la collaboration technique de Marie-Madeleine OTTENWAELTER et M. HEVIN

*Station de Recherches de Viticulture,*
*Centre de Recherches de Bordeaux, I.N.R.A.*
*33140 Pont-de-la-Maye*

## Résumé

Nous avons tenté de vérifier si deux viroses de la Vigne (Court-noué, Marbrure) pouvaient se transmettre au cours de la reproduction sexuée. On a croisé, à cet effet, des clones mâles et femelles de *Vitis rupestris*, après les avoir inoculés par différentes sources virales. Ni l'observation directe des descendants obtenus de semis, ni le recours à la technique du greffage-indexage avec « Rupestris du Lot » n'ont permis de déceler la transmission des deux viroses précédentes par les gamètes, dans nos conditions.

## Introduction

La mise en évidence d'un éventuel rôle vecteur des gamètes peut avoir une triple incidence :

— C'est un aspect de la connaissance des viroses jusqu'ici assez peu développé chez la Vigne.

— Les conséquences de ce phénomène sur la propagation des viroses dans les vignobles devraient alors être analysées de plus près surtout si l'on montrait qu'un porte-graine peut être contaminé par du pollen exogène.

— Le sujet revêt une grande importance pour le sélectionneur car des géniteurs dont l'état sanitaire n'est pas défini risquent, s'ils sont virosés, de donner naissance à des plants précocement contaminés; si cela était confirmé, il ne devrait utiliser que des variétés reconnues indemnes.

La question, bien que débattue depuis longtemps, n'a pas reçu de réponses qui nous satisfassent pleinement comme nous allons le montrer en analysant les travaux antérieurs. Cet examen est facilité par le petit nombre des références dont seules quelque-unes sont spécifiques et ont retenu notre attention parce que les plus riches d'information sur le thème qui nous occupe (tabl. 1).

TABLEAU I

*Principales références relatives à la transmission de viroses par la graine chez la Vigne*

| Auteur | Date | Matériel végétal | Virose ou virus | Critère de jugement | Transmission |
|---|---|---|---|---|---|
| BALTHAZARD . . . . . . . | 1966 | *V. vinifera*<br>*V. riparia* × *V. berlandieri* | GFV (*)<br>GFV-YM | Observation directe<br>Cordons endovasculaires | Non |
| BOUBALS . . . . . . . . | 1969 | *V. vinifera* | Enroulement<br>Court-noué | Observation directe<br>Test Chénopode | Non |
| CORY, HEWITT. . . . . . | 1968 | *V. vinifera* | GFV, GFV-VB (*)<br>GFV-YM, GYVV | Test Chénopode | Oui<br>(Avec réserves) |
| COSMO, PIERI . . . . . . | 1959 | *V. vinifera* | Court-noué | Observation directe<br>Cordons endovasculaires | Oui |
| DURQUETY . . . . . . . | 1963 | *V. vinifera* | Panachure | Observation directe<br>Greffage | Oui |
| FOGLIANI . . . . . . . . | 1957 | *V. vinifera* | Court-noué<br>Panachure | | Non |
| GILMER, KELTS . . . . . | 1968 | *V. labrusca* × *V. vinifera* | TMV (*) | Test Chénopode<br>Test Tabac | Oui |
| HEVIN . . . . . . . . . | 1973 | *V. vinifera* | Court-noué<br>Marbrure | Greffage-indexage avec « Rupestris du Lot » | Non |
| PANTANELLI. . . . . . . | 1912 | *V. vinifera* | Court-noué<br>Panachure | | Non |
| PIERI. . . . . . . . . . | 1966 | *V. vinifera* | Panachure<br>Mosaïque | Observation directe | Oui |

(*) Grape-vine Fan-Leaf Virus, GFV-Yellow Mosaic, GFV-Vein-Banding, Grape Yellow Vein Virus, Tomato Mosaic Virus.

DURQUETY (1963, 1969) a observé dans des descendances de certaines variétés de *Vitis vinifera* l'apparition de plantules porteuses d'anomalies pigmentaires et morphologiques. Celles-ci ont pu être transmises, par greffage, de plantule à plantule. L'auteur indique cependant que la transmissibilité est variable d'année en année pour une même plante-mère. Par ailleurs l'état sanitaire des plantes-mères n'est pas précisé.

BALTHAZARD (1966) rapporte une expérience dont l'intérêt principal est d'avoir cherché à dissocier le rôle de chacun des gamètes. On ne peut se satisfaire de ses conclusions car, d'une part certaines descendances ont des effectifs trop faibles et d'autre part le test de dépistage utilisé à l'époque (recherche des cordons endovasculaires) a été remis en cause par la suite (BELLI *et al.*, 1972). Il reste que l'auteur n'a relevé aucune transmission des deux viroses étudiées (GFV, GFV-YM (*) chez les descendants des deux variétés choisies, que ce soit par observation directe pendant deux cycles végétatifs ou par recherche des cordons endovasculaires.

Les seules informations relatives à la virose de l'enroulement nous sont fournies par BOUBALS (1969). Il s'agit uniquement d'observations visuelles faites à la fin du deuxième cycle végétatif après le semis et portant sur 300 plants de cinq descendances issues d'autofécondations de souches virosées : aucun symptôme n'est signalé. D'autre part, le même auteur, a scruté les 263 descendants issus d'autofécondations de quatre groupes de souches atteintes par le court-noué à des degrés divers. Les essais de transmission à *Chenopodium quinoa* faits sur 50 p. 100 des descendants pris au hasard sont tous négatifs. On doit souligner que les tests ont été pratiqués au début du second cycle végétatif après le semis et qu'on ne dispose d'aucune information sur le taux de la sélection que ces descendances ont éventuellement subie.

HEVIN *et al.* (1973*b*) ont procédé de la même façon que BOUBALS pour l'obtention des plants de semis : fécondation libre de souches virosées de quatre variétés de *Vitis vinifera*. La recherche de virus (Marbrure et Court-noué) a été faite par greffage-indexage avec la variété indicatrice « Rupestris du Lot ». Les 145 plants indexés (sur les 211 obtenus) n'ont induit aucun symptôme. L'inconvénient de cette technique est qu'elle ne peut s'appliquer qu'à des plantes dont la tige est assez grosse pour être greffée. Les auteurs ont donc négligé toutes celles qui étaient peu vigoureuses.

Le travail de GILMER et KELTS (1958) a porté sur le *Tomato mosaic virus*, fréquent chez la Vigne dans l'état de New-York, ce qui n'est pas le cas en France. Ils ont montré que ce virus était transmis par graine chez le Poirier et le Pommier. On peut retenir de la série d'expériences rapportée que, malgré le luxe de précautions visant à éviter toute contamination fortuite (qui semble fréquente du moins chez la Tomate), le taux de transmission déterminé par test Chénopode est le plus élevé jamais signalé chez la Vigne (25 p. 100). On note que les tests ont porté sur des jeunes plantules contrairement aux essais relatés plus haut. On peut déduire de ce travail que la contamination serait surtout le fait du porte-graine : on ne peut par contre rien dire sur le rôle du pollen.

CORY et HEWITT (1968) ont fait porter leurs efforts sur les virus du groupe

(*) Grapevine Fan-Leaf Virus, GFV-Yellow Mosaic.

du Court-noué (GFV); ils ont montré qu'ils peuvent être véhiculés par le pollen (tests Chénopode positifs). D'autre part, après avoir obtenu des symptômes sur *Chenopodium quinoa* inoculés à l'aide d'extraits de jeunes plantules de vigne (taux variable : de 0 à 64 p. 100), ils ont montré clairement que le virus était présent seulement dans l'endosperme à l'exclusion des embryons. En effet, ils ont testé de très jeunes plantules sur la plupart desquelles subsistaient des fragments d'endosperme : des plantules soigneusement débarrassées des restes de pépin et lavées ne provoquent plus de symptômes sur Chénopode. Les auteurs, sachant que le Court-noué peut se transmettre par la graine de certaines plantes herbacées, n'excluent pas que des combinaisons virus — variétés particulières puissent conduire exceptionnellement à une telle transmission.

Il nous paraît utile de confronter les résultats des deux articles précédents, sachant que les auteurs eux-mêmes n'en ont pas eu la possibilité étant donné les dates de parution de leurs publications respectives. Si l'on rapproche les conclusions des uns et des autres, on peut raisonnablement supposer que le TMV, bien que n'appartenant pas au même groupe de virus, peut bien être lui aussi présent dans l'endosperme seul. De plus nous avons souligné au passage que BALTHAZARD, BOUBALS et HEVIN ont testé des plants longtemps après leur semis, donc en l'absence certaine de tout résidu d'endosperme suspect. Quoiqu'il en soit la comparaison des conclusions avancées par les divers auteurs est difficile à cause de la variété des modalités de détection et de la nature différente du matériel végétal utilisé : ceci explique en partie qu'elles divergent grandement. Devant ce manque de concordance, il nous a paru nécessaire et utile d'essayer d'aller plus avant.

## Matériel et techniques

La technique de détection actuellement à notre portée est celle qui consiste à relever les symptômes spécifiques apparus après inoculation par greffage d'une variété indicatrice : c'est la technique du greffage-indexage. On sait qu'elle est suffisamment précise (HEVIN *et al.*, 1973*a*) et donne une réponse rapide si l'on greffe en cours de végétation. La variété « Rupestris du Lot » étant l'indicateur habituel des viroses du groupe du Court-noué ainsi que de la Marbrure, nous avons utilisé comme géniteurs des variétés de la même espèce (*V. rupestris*) qui présentent un double intérêt :

— Les plantules obtenues doivent extérioriser des symptômes dans le cas de contamination ce qui évite le recours au greffage-indexage, sinon à titre de vérification. On postule que les plantules se comportent comme leurs ascendants car l'extériorisation des symptômes paraît être une propriété de l'espèce.

— L'espèce étant dioïque, les hybridations sont facilitées puisqu'il est inutile de castrer le parent femelle. De plus on n'est pas gêné en cours de route par les effets dépressifs sur la vigueur liés à la consanguinité.

Le schéma d'expérience retenu consiste à inoculer par greffage des mâles et des femelles à l'aide de diverses sources virales puis à réaliser tous les croisements possibles entre les différentes combinaisons hôte-virus. A cet effet nous avons choisi dans notre collection trois variétés mâles et trois femelles de l'espèce *V. rupes-*

*tris*. Après avoir vérifié par greffage-indexage que ces variétés n'induisaient aucun symptôme nous en avons inoculé des boutures racinées à l'aide de greffons prélevés sur des variétés qui ont manifesté les symptômes caractéristiques ci-après :

| | | |
|---|---|---|
| 1) « Cabernet-Franc » | Panachure réticulée | (GFV-VB) |
| 2) « Cabernet-Franc » | Panachure ordinaire » | (GFV-YM) |
| 3) « Muscat de Hambourg » | Court-noué<br>Ring-spots sur « Rupestris du Lot » | (GFV) |
| 4) « Merlot » | Mosaïque | (GFV-YM) |
| 5) « Rupestris du Lot » | Entre-nœuds courts<br>Palmettes | (GFV) |
| 6) « Chasselas » | Marbrure | |
| 7) Témoin | Boutures non inoculées | |

La nature des virus respectivement en cause n'a pas été déterminée avec précision (sérologie) de sorte que la mention portée ci-dessus entre parenthèses n'est qu'indicative : c'est une présomption de présence prédominante du virus indiqué qui n'exclue pas l'éventualité de présence concomitante d'un autre virus du même groupe.

Le greffage-inoculation des six variétés de *V. rupestris* a été fait au printemps 1972 et nous avons vérifié cette même année que les plants inoculés extériorisaient bien les symptômes des viroses correspondantes tandis que les témoins ne manifestaient rien de suspect. Un contrôle par greffage-indexage a été fait trois ans plus tard avec les mêmes résultats. L'ensemble du matériel végétal de départ a été cultivé sous serre et alimenté avec une solution nutritive (système hydroponique); on a pu, dans ces conditions, commencer les croisements en 1973 dont il est résulté

TABLEAU 2

*Effectifs des descendances issues des diverses combinaisons parentales*
(total général : 5 816)

| ♀ \ ♂ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 456 | 91 | 235 | 0 | 80 | 291 | 290 |
| 2. | 14 | 18 | 24 | 0 | 19 | 27 | 30 |
| 3. | 78 | 20 | 132 | 19 | 81 | 83 | 134 |
| 4. | 46 | 20 | 75 | 0 | 46 | 111 | 126 |
| 5. | 7 | 30 | 0 | 0 | 0 | 2 | 6 |
| 6. | 166 | 39 | 30 | 0 | 186 | 101 | 41 |
| 7. | 661 | 45 | 495 | 8 | 399 | 406 | 648 |

Certaines combinaisons sont absentes ou très faiblement représentées du fait de l'état sanitaire des parents inoculés (les numéros d'entrée du tableau sont explicités dans le texte).

une première série de descendants observés l'année suivante (551 plants de 26 combinaisons différentes). Une deuxième série de croisements, complémentaires des premiers, a été faite en 1974 et a conduit à l'observation de 5 265 descendants en 1975. Ces chiffres sont détaillés au tableau n° 2. Cet état ne rend pas compte, pour la commodité de l'exposé, du fait que chaque descendance a été suivie de bout en bout de façon généalogique : cette précaution est, en effet, indispensable pour pouvoir à tout moment remonter la filière depuis un descendant quelconque jusqu'à ses deux ascendants.

## Résultats et discussion

La première série de 551 descendants a fait l'objet d'observations particulièrement fines de sorte que nous avons relevé un certain nombre de petites anomalies qui seraient sans doute passées inaperçues dans un travail de sélection routinier. Chez 146 plants, soit un peu plus du quart, nous avons relevé des manifestations jugées *a priori* suspectes bien qu'elles fussent nettement différentes des symptômes viraux classiques. Il s'agit pour partie d'anomalies de coloration du limbe (84 p. 100), telles que petites tâches chlorotiques peu nombreuses et diversement réparties et pour partie d'anomalies morphologiques (16 p. 100), telles que feuilles de forme ou de découpure un peu inattendue. Il est surprenant que ces anomalies apparaissent aussi sur des plants issus de parents sains. Par ailleurs, il n'existe pas de différence significative, d'après le test de KOLMOGOROV-SMIRNOV, entre les chiffres des différentes lignes et colonnes du tableau 3, considérées successivement.

L'année suivante nous avons constaté les mêmes phénomènes, avec même une

TABLEAU 3

*Proportions d'anomalies relevées dans chaque descendance issue de la première série de croisements*

| ♀ \ ♂ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. . . . . . . . | 5/5 | 1/11 | 3/8 | | 7/31 | 9/41 | 10/39 |
| 2. . . . . . . . | 1/1 | | 0/1 | | | | |
| 3. . . . . . . . | 8/28 | 3/20 | 11/26 | 11/19 | 4/36 | | |
| 4. . . . . . . . | | | 2/5 | | 1/6 | | |
| 5. . . . . . . . | 5/7 | | | | | 2/2 | 3/6 |
| 6. . . . . . . . | 1/4 | | | | | | 1/5 |
| 7. . . . . . . . | 15/40 | 4/18 | 11/45 | | 12/62 | 9/32 | 7/53 |

— Au numérateur : nombre de plants atteints (total : 146).
— Au dénominateur : nombre de descendants observés (total : 551) (les n° d'entrée du tableau sont explicités dans le texte).

fréquence accrue, sans qu'il soit possible de discerner pour autant de liaison entre années. Certains plants ont eu un comportement analogue; chez d'autres on n'a plus rien observé de suspect tandis que des anomalies sont apparues sur des plants jugés normaux auparavant. Nous en avons alors indexé 90 des différentes classes ci-dessus, à raison de deux ou trois greffons par plant indicateur. Seuls 19 d'entre eux ont provoqué quelques réactions d'intensité très faible et n'ayant rien de commun avec les symptômes de choc attendus en pareil cas. On a indexé à nouveau 12 de ces 19 plants avec deux à trois répétitions : tous les tests ont été négatifs.

Étant donné que, d'une part la probabilité d'une répartition aléatoire est élevée et que d'autre part les contrôles par indexage sont négatifs, on peut raisonnablement conclure à l'innocuité des anomalies décrites, à moins qu'elles traduisent la présence d'une virose non révélée par la variété « Rupestris du Lot ». Il est, toutefois, curieux que leur fréquence varie, semble-t-il, selon les années.

En 1975, nous avons semé les pépins issus de la deuxième série de croisements; 5 265 plants ont été observés pendant une période suffisamment longue pour qu'ils puissent être jugés. Étant donné l'expérience acquise sur les précédents, nous ne faisons pas état ici des anomalies relevées, de même nature mais de moindre fréquence, à l'exception de 4 d'entre eux : soumis à l'indexage avec deux répétitions, ils n'ont induit aucun symptôme.

Un dernier point digne d'une mention est relatif à l'état sanitaire des porte-graines utilisés. Précisons qu'au cours des hybridations nous avons souvent pollinisé les diverses inflorescences d'une même plante femelle avec des pollens d'origine variée, provenant tant de pieds mâles témoins que d'autres inoculés. Il nous a paru indispensable de vérifier si des porte-graines non inoculés n'ont pas été contaminés en cours d'expérience soit par le pollen soit par une autre cause incontrôlée. A cet effet, 26 pieds ont subi l'indexage habituel, avec cinq répétitions, ce qui n'a révélé aucune réaction suspecte.

## Conclusion

Nous rappelons que la relation de cet essai a été délibérément simplifiée pour en faciliter l'exposé : en fait l'expérimentation a été conçue et conduite de façon à pouvoir, en cas de transmission, faire les recoupements nécessaires à une étude plus détaillée des facteurs en cause notamment : influence du génotype dans la relation hôte-virus, rôle respectif des gamètes mâle et femelle comme vecteurs de virus, pourcentage de transmission selon les combinaisons hôte-virus.

Les expériences précédentes n'ont pas permis d'élucider les points suivants :

— Il a été montré clairement que, si le pollen de Vigne et l'endosperme des graines peuvent être contaminés, l'embryon semble échapper à l'infection.

— On sait que le taux de germination des pépins varie beaucoup sans que l'on en connaisse toutes les raisons, de sorte qu'un nombre variable de descendants échappent à l'investigation par les techniques que nous avons utilisées. On peut se

demander si des virus ne sont pas responsables d'une létalité précoce de l'embryon ou de la plantule.

Nous pouvons conclure que, dans nos conditions expérimentales, il a été impossible de transmettre par les gamètes le Court-noué et la Marbrure. Si cet état de chose est confirmé, les conséquences pratiques quant aux interrogations formulées dans notre introduction sont les suivantes :

— La propagation par voie gamétique des viroses étudiées nous paraît très peu probable.

— Toutefois le sélectionneur a intérêt à ne choisir que des plantes reconnues indemnes de virus après indexage; il n'utilisera comme géniteurs des variétés dont l'état sanitaire n'est pas défini qu'en cas de nécessité. Chacun connaît en effet les répercussions défavorables de la plupart des viroses sur l'aptitude à la reproduction de la Vigne : diminution du taux de germination du pollen et des pépins, mauvaise nouaison.

*Reçu pour publication en juin 1976.*

## Remerciements

Je remercie Max RIVES qui fut l'initiateur de ce travail et Guy FOUILLOUX pour ses observations au cours de la rédaction.

## Summary

*Attempt at seed transmission of two virus diseases of the Grapevine (Court-noué and Marbrure)*

We tried to confirm the seed-transmission of two virus diseases of the Grapevine (Court-noué and Marbrure). We used different male and female clones of *Vitis rupestris**; they were graft-inoculated by different virus sources and then hybridized. Neither the direct observation of the seedlings nor the graft-indexing technique using « Rupestris du Lot » as an indicator, could show any seed-transmission, in our conditions.

## Références bibliographiques

BALTHAZARD J., 1966. Essai de transmission de la dégénérescence infectieuse de la Vigne par le semis. *Prog. Agric. Vitic.*, **83** (4), 84-88.

BELLEGARDE Hélène, 1975. Essai de transmission de virus par la graine chez la Vigne. *Mémoire E.N.I.T.A., Bordeaux*, 90 p.

BELLI G., OSLER R., FORTUSINE A., 1972. Indagini sulla validita dei cordoni endocellulari come test per la selezione sanitaria della Vite. *IVe Conf. I.C.V.G. Colmar, juin 1970, Ann. Phytopathol. H. S.* 17-21.

BOUBALS D., 1969. Observations sur la non-transmission par graine de deux viroses chez la Vigne (*Vitis vinifera L.*). *Ann. Amélior. Plantes*, **19**, 2, 213-219.

CAUDWELL A., HEWITT W. B., BOVEY E., 1972. Les viroses de la Vigne. Bibliographie de 1965 à 1970. *Vitis*, **11**, 303-324.

CORY L., HEWITT W. B., 1968. Some grapevine viruses in pollen and seed. *Phytopathology*, **58** (9), 1316-1320.

COSMO I., PIERI G., 1959. Alcune indagini sulla « degenerazione infettiva » della Vite. *Riv. Vitic. Enol.*, **12** (9), 311-315.

DURQUETY P. M., 1963. La Mosaïque cotylédonnaire. Les anomalies morphologiques et la panachure de la dégénérescence infectieuse dans la descendance d'une variété bordelaise de l'espèce *V. vinifera*, le Verdeau colon. *Prog. agric. vitic.*, **80** (19), 191-193.

DURQUETY P. M., 1969. Les anomalies morphologiques et pigmentaires chez *Vitis vinifera L. Prog. agric. vitic.*, **86** (14), 282-289.

GILMER R. M., KELTS L. J., 1968. Transmission of Tobacco mosaïc virus in Grape seeds. *Phytopathology*, **58** (3), 277-278.

HEVIN M., LECLAIR Ph., RIVES M., 1973a. Green grafting as a quick and secure method for graft-indexing viruses in the Grapevine. *V^e Conf. I.C.V.G. Salice Terme Septembre 1973. Riv. Patol. vég.* **9**, *série IV*, 277-278.

HEVIN M., OTTENWAELTER M. M., DOAZAN J. P., RIVES M., 1973 b. Investigating the transmission of Marbrure and Fan-leaf through the seed in the Grapevine. *V^e Conf. I.C.V.G. Salice Terme Septembre 1973. Riv. Patol. vég.* **9**, *série IV*, 253-262.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (2), 255-266.

# Localization of genes in *Capsicum annuum* L. by trisomic analysis

E. POCHARD

avec la collaboration technique de G. BREUILS et Augustine FLORENT

*Station d'Amélioration des Plantes maraîchères,*
*Centre de Recherches d'Avignon, I.N.R.A.,*
*84140 Montfavet*

## Summary

Eleven out of the twelve possible primary trisomics are now available in *Capsicum annuum* (POCHARD, 1968 and 1970). They all spring from a single haploid plant issued from the cultivar « Doux-des-Landes », similar to « Piment de Cayenne » but not pungent. Using this material, the localization of eight genes was performed by comparing the disjunctions in $F_2$ generations issued from diploid or trisomic $F_1$.

On chromosome XI (very small acrocentric chromosome) three genes are located: C (presence of capsaicine in the fruits), *xantha 3* and *xantha 8*.

On the chromosome corresponding to trisomic BR are located $L^1$ (resistance to TMV) and MoA.

A gene (anthocyanin in the stems leaves and corollas) belongs to the chromosome corresponding to RO trisomic, up (erect fruit) to NO trisomic an y (probably) to IN trisomic.

Knowledge of Pepper genetics is still very fragmentary compared to that we possess in the Tomato. The work of LESLEY (1932), RICK and BARTON (1954) on *Lycopersicon esculentum* allowed the identification and the use of trisomics to establish chromosome maps. This tool is now available in *Capsicum annuum* (POCHARD 1968). Eleven, out of the twelve possible primary trisomics, are identified through their particular phenotype. Among them, three are cytologically recognizable (chromosomes I, XI and XII) (POCHARD, 1970). They all spring from the same haploid plant (cultivar « Doux-des-Landes ») and therefore possess the same genotype, which makes it easier to analyse disjunctions when the effect of the genes are quantitative.

(*) Communication au Congrès Capsicum-Eucarpia, Budapest, 1-5 juillet 1974.

According to LIPPERT *et al.* (1966) only one linkage group in known with certainty: this is the A-O swl group (PETERSON, 1939). According to the results obtained by other authors, there could be a genetic link between C, pi and up, this hypothetical group being possibly situated on the same chromosome as the previous group. In order to verify these assumptions and to localize the linkage group carrying the A locus, the trisomics were crossed with cultivars bearing the genes to be studied (except for pi). The results which are reported here relate to the A, MoA, C and up genes as well as to $L^i$, y, *xantha 3* and *xantha 8*. The data relating to o and swl will be published elsewhere.

## Materials and methods

The trisomics of « Doux-des-Landes » (D.D.L.) are identified through their phenotype which differs from that of the diploid in a great number of characters (POCHARD, 1970). They have been given code names which correspond to colours and which are represented in this text in an abbreviated form by the first two letters of the particular colour (e.g. « Brun » : BR). Only three chromosomes can be identified cytologically, the others being metacentric and of similar size. The chromosome I (the longest of the complement) has one arm a little longer than the other and comprises a secondary constriction: it corresponds to the « Violet » trisomic (VI). The chromosome XI has a subterminal centromere: it corresponds to the « jaune » trisomic (JA). The chromosome XII, which is the smallest «has a short arm bearing two satellites of very small dimensions; this is the nucleolus organizing chromosome; it corresponds to the « Pourpre » trisomic (PO).

The cultivars possessing the genes to be localized are the following:

— « Nigrum », a line bearing violet flowers (the whole plant is heavily anthocyanized) carries the A, MoA, C and up genes.

— « Enomi », an ornamental cultivar carrying the C, swl, and sw2 and up genes.

— PM 165, a line resulting from material supplied by A.A. COOK, carrying the $L^i$ gene, the same gene as in « Yolo-Wonder » (TMV resistance).

— « Jaune-de-Pignerol », a line which comes from Piedmont, possessing the o gene (tomato-shaped flat fruit) and the y gene (the fruit is yellow when mature).

The *xantha 3* and *8* mutants were obtained during gene mutation trials on haploid material (POCHARD, 1969). They are part of a set of recessive mutants which is now being investigated.

All the trisomics are self-fertile and transmit the supplementary chromosome through the female at rates which range from 5 to nearly 50 p. 100, as the case may be. The rates of transmission through pollen are generally very low.

The $F_1$ of « trisomic × marker » crosses are selected according to the phenotype. From three to six plants, which are supposedly trisomic, are set aside and put in a glasshouse under conditions in which allogamy is low but not entirely wanting (accidental visits by pollinating insects). The trisomic state is confirmed

by the development in $F_2$, at characteristic rates, of plants possessing the phenotype which is peculiar to the initial trisomic (tetrasomics or double trisomics may appear at significant rates).

The disjunctions observed in $F_2$ are compared with those noted in the control sample. Statistical analysis includes the use of the $\chi^2$ test in order to determine any deviations from the normal type of disjunction (usually 1: 3) ( $\chi^2$D) and also to test the homogeneity of the results obtained from various $F_1$ plants originated from the same trisomic ( $\chi^2$H). For a basic information on the use of primary trisomics one can refer to HERMSEN (1970). In order to make clear the interpretation of observed frequencies, we are giving the expected proportions of plants displaying the phenotype controlled by the marker gene (a: recessive, or A: dominant, the original trisomic lines being of the wild + type) in the progeny of trisomic $F_1$ plant *a*++ or A++. Diploid and trisomic progenies are given separately, assuming no transmission through male gametophyte.

At present, the different caryotypes are mixed in variable proportions; cytological observations are necessary for an unambiguous assessment.

1. — *Diploid progeny*

(Between brackets: progeny of a heterozygous diploid plant).

1.1. — *Localization of a recessive allele a:*

| | | | |
|---|---|---|---|
| 1.1.1. — Test cross: ♀ *a*++ × ♂ *aa* | 1/3 | [*a*] | (1/2) |
| 1.1.2. — $F_2$: selfing of *a*++ | 1/9 | [*a*] | (1/4) |

1.2. — *Localization of a dominant allele A:*

| | | | |
|---|---|---|---|
| 1.2.1. — Test cross: ♀ A++ × ♂ ++ | 1/3 | [A] | (1/2) |
| 1.2.2. — $F_2$: selfing of A++ | 5/9 | [A] | (3/4) |

2. — *Trisomic progeny*

One must consider three different cases: α: the marker gene is strongly linked to the centromere, β: it is not linked to the centromere and γ: it is partly linked, *p* being the recombination rate between the studied locus and the centromere. In the first case, no *aa* (or AA) gamete should appear, for sister chromatids are always separated at the second meiotic division. In the secund hypothesis, all six chromatids behave independently: there are 15 combinations of two chromatids, among which only one is *aa* (or AA). The third situation is intermediate.

2.1. — *Localization of a recessive allele a*

Plants with [*a*] phenotype in the trisomic progeny:

| | | | |
|---|---|---|---|
| 2.1.1. — Test cross | α 0/1; | β 1/15; | γ 2*p*/15 |
| 2.1.2. — $F_2$ | α 0/1; | β 1/45; | γ 2*p*/45 |

2.2. — *Localization of a dominant allele A*

Plants with [A] phenotype in the trisomic progeny.

2.2.1. — Test cross α 2/3; β 9/15; γ 10-2*p*/45

2.2.2. — $F_2$ α 7/9; β 33/45; γ 35-4*p*/45

## Results

### *L*[1] *gene*

In the cultivar « Yolo-Wonder », as well as in many other *Capsicum annuum* cultivars, the L[1] gene determines resistance to Tobacco Mosaic (HOLMES, 1937; POCHARD, 1965). It behaves like a completely dominant gene when tests are

TABLE I

*Localization of the character: resistance to Tobacco Mosaic* (L[1] gene, HOLMES 1937).

L[1] gene (D.D.L. × PM 165)

| $F^2$ | [*r*] | Total | $\chi^2_D$ | $\mathcal{P}$ | $\chi^2_H$ | $\mathcal{P}_H$ | K |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Diploid | 33 | 151 | 0,80 | 0,30-0,50 | 0,10 | 0,30-0,50 | 2 |
| VI (I) | — | — | — | — | — | — | — |
| IN | 46 | 187 | 0,016 | > 0,50 | 0,01 | > 0,50 | 2 |
| BL | 20 | 82 | 0,016 | > 0,50 | — | — | 1 |
| VE | 28 | 109 | 0,027 | > 0,50 | — | — | 1 |
| JA (XI) | 58 | 206 | 1,09 | 0,10-0,20 | 1,76 | 0,10-0,20 | 2 |
| OR | 31 | 151 | 1,61 | 0,20-0,30 | 0,03 | > 0,50 | 2 |
| RO | 35 | 145 | 0,058 | 0,30-0,50 | 1,97 | 0,10-0,20 | 2 |
| PO (XII) | 45 | 190 | 0,175 | > 0,50 | 0,46 | 0,50 | 2 |
| NO | 33 | 151 | 0,80 | 0,30-0,50 | 0,10 | > 0,50 | 2 |
| BR | S | S | S | S | 3,57 | 0,30-0,50 | 4 |
| BI | 26 | 76 | 3,44 | 0,05-0,10 | — | — | 1 |
| F2 « normal » | 355 | 1 448 | 0,181 | > 0,50 | 7,85 | > 0,50 | 10 |
| BR (*a*) | 39 | 75 | 29,2 | < 0,001 | | | |
| (*b*) | 20 | 39 | 14,4 | < 0,001 | | | |
| (*c*) | 21 | 40 | 16,1 | < 0,001 | | | |
| (*d*) | 29 | 44 | 39,3 | < 0,001 | | | |
| F2 « BR » | 109 | 198 | 95,4 | < 0,001 | 3,57 | 0,30-0,50 | 4 |

[*r*] Frequency of the L+ phenotype (plants susceptibles to TMV as D.D.L.).
$\chi^2_D$ $\chi^2$ deviation to a 1: 3 distribution.
$\chi^2_H$ $\chi^2$ homogeneity in K progenies as a whole.
$\mathcal{P}$ probability of $\chi^2$.
S significant deviation to 1: 3 distribution (detailed analysis given separately).
K number of progenies originating from the same source.
VI, IN, etc... code name for the various trisomics (between brackets, corresponding chromosome when it is known).

carried out under normal temperature conditions (about 20 to 25 °C), using the Tobacco Mosaic strains which are the most widely spread in Europe (this is not the case with some American strains). The inoculum used is an aucuba type, « Tomato » strain, which produces very distinct mosaic symptoms on susceptible genotypes. The resistant plants exhibit local lesions on the inoculated organs (the cotyledons) which are similar to those produced on *Nicotiana xanthi*. The cotyledons fall off and the plants remains free from any disease.

The $F_2$ distribution of recessive plants (plants which are susceptible to Tobacco Mosaic) will be found in Table I.

A fairly good adjustement to 1: 3 distribution (susceptible: resistant) is found in the diploid control samples and in all the trisomics other than Brun (BR). The four progenies corresponding to BR show a highly significant excess of susceptible plants. The noted percentage ranges about 50 p. 100, a little higher than expected (4/9). One could assumes that dominance of the $L^i$ gene is not complete in $F_2$ trisomic plants which have only one part of $L^i$ to two parts of the $L^+$ allele.

Localization of $L^i$ on the chromosome corresponding to BR trisomic is highly probable.

## *A and MoA genes*

The A gene which determines the presence of anthocyanin on most organs (including the corolla) is fully operative only when the MoA modifier is present (DESHPANDE, 1939, LIPPERT *et al.*, 1965). Those genes have a quantitative effect which is dependant on temperature and light and a continuous range of colour intensity in the $F_2$ generation can be observed.

Tests were carried out at two different stages but we are only recording results which relate to the young plants. On table 2 is given the frequency of young plants which exhibit weak anthocyanic colour limited to the hypocotyl as in the D.D.L. variety (plants classified as « uncoloured »). The young plants which exhibit a zone of anthocyanin at the base of the petiole of the cotyledon are classified as « coloured ».

In control samples and most $F_2$ trisomic offspring the proportion of « uncoloured » plants is equal to 1/4 or slightly higher. Some progenies such as BI offer higher rates than the others. It is likely that there are other anthocyanin modifiers than MoA.

The progenies of the RO and BR trisomics deviate distinctly from the type of disjunction observed in the diploid control samples, these deviations being greater in RO.

Observations carried out at the adult stage, which we cannot record here in detail, bear out the fact that the A gene is located on the chromosome corresponding to the RO trisomic. The MoA gene, which is only partly dominant, seem to be situated on the chromosome which corresponds to the BR trisomic.

As a matter of fact, plants bearing white corollas, like « Doux-des-Landes », are respectively 54/195 in the diploid control sample D, 76/197 in the progeny of RO trisomic (probability RO = D less than 0,01) and 52/195 in the progeny of BR trisomic (not different from D). Plants showing deeply coloured stems,

TABLE 2

*Localization of the genes controlling the presence of anthocyanin on leaves, stems and flowers* (A and MoA gene, DESHPANDE, 1939, LIPPERT *et al.*, 1965.)

A and MoA genes (D.D.L. × « Nigrum »)

| F2 | [r] | Total | $\chi^2_D$ | $\mathcal{P}$ | $\chi^2_H$ | $\mathcal{P}_H$ | K |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Diploid | 123 | 480 | 0,10 | > 0,50 | 2,19 | 0,50 | 4 |
| VI (I) | 128 | 436 | 4,41 | 0,02-0,05 | — | — | 1 |
| IN | 91 | 383 | 0,31 | > 0,50 | 0,87 | > 0,50 | 4 |
| BL | 70 | 302 | 0,53 | 0,30-0,50 | 2,08 | > 0,50 | 4 |
| VE | 133 | 447 | 5,38 | 0,02 | 3,05 | 0,30-0,50 | 4 |
| JA (XI) | 63 | 251 | 0,001 | > 0,50 | 0,58 | > 0,50 | 4 |
| OR | 94 | 392 | 0,22 | > 0,50 | 2,10 | > 0,50 | 4 |
| RO | S | S | S | S | 0,87 | 0,30-0,50 | 4 |
| PO (XII) | 82 | 341 | 0,16 | > 0,50 | 0,91 | > 0,50 | 4 |
| NO | 70 | 260 | 0,51 | 0,30-0,50 | 3,04 | 0,30-0,50 | 4 |
| BR | S | S | S | S | 1,64 | > 0,50 | 4 |
| BI | 155 | 470 | 15,9 | < 0,001 | 1,02 | 0,50 | 4 |
| F2 « normal » | 1 009 | 3 762 | 6,65 | 0,01 | 20,95 | 0,01-0,02 | 10 |
| RO (*a*) | 39 | 84 | 20,5 | 0,001 | | | |
| (*b*) | 43 | 85 | 29,7 | 0,001 | | | |
| (*c*) | 47 | 104 | 22,6 | 0,001 | | | |
| (*d*) | 47 | 96 | 29,4 | 0,001 | | | |
| F2 « RO » | 176 | 369 | 101,4 | < 0,001 | 0,87 | 0,30-0,50 | 4 |
| BR (*a*) | 34 | 107 | 16,7 | < 0,001 | | | |
| (*b*) | 36 | 111 | 8,7 | < 0,01 | | | |
| (*c*) | 46 | 127 | 17,2 | < 0,001 | | | |
| (*d*) | 39 | 125 | 7,3 | < 0,01 | | | |
| F2 « BR » | 144 | 351 | 48,2 | < 0,001 | 1,64 | > 0,50 | 4 |

[r] frequency of the recessive phenotype (as « Doux-des-Landes).
$\chi^2_D$ etc... cf. table 1.

leaves and corollas (more or less similar to the male parent « Nigrum ») are 25/195 in the D $F_2$, 6/127 in the RO $F_2$, 3/197 in the BR $F_2$ (highly significant deficit in the two progrenies, but the whole progeny issued from BR appear lighter).

The $MoA^+$ allele appears to act as an anthocyanin inhibitor. It is worthy of note that the primary BR trisomic carries much less anthocyanin than the corresponding diploid; the stamens, particularly, are very light-coloured.

### *up gene*

This gene determines the upright habit of the fruit (LIPPERT *et al.*, 1965). It is not, in fact, completely recessive. In the two crosses we investigated, the heterozygotes had a more or less horizontal habit. The D.D.L. parent bears

TABLE 3

*Localisation of the character « erect fruit »*
(up gene, LIPPERT *et al.*, 1965), (D.D.L.: hanging fruit, Enomi: erect fruit).

up gene (D.D.L. × « Enomi »)

| F2 | [r] | Total | $\chi^2_D$ | $\mathcal{P}$ | $\chi^2_H$ | $\mathcal{P}_H$ | K |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Diploid | 73 | 298 | 0,04 | > 0,50 | 0,02 | > 0,50 | 3 |
| VI (I) | 47 | 187 | 0,001 | > 0,50 | 0,09 | > 0,50 | 2 |
| IN | 24 | 96 | 0,00 | > 0,50 | — | — | 1 |
| BL | 18 | 85 | 0,66 | 0,30-0,50 | — | — | 1 |
| VE | 63 | 285 | 1,27 | 0,20-0,30 | 1,56 | 0,30-0,50 | 3 |
| JA (XI) | 52 | 222 | 0,29 | > 0,50 | 2,56 | 0,10 | 2 |
| OR | 46 | 184 | 0,00 | > 0,50 | 0,007 | > 0,50 | 2 |
| RO | 41 | 228 | 5,99 | 0,01-0,02 | 0,14 | > 0,50 | 2 |
| PO (XII) | 66 | 279 | 0,27 | > 0,50 | 0,91 | > 0,50 | 3 |
| NO | S | S | S | S | 0,83 | > 0,50 | 5 |
| BR | 21 | 95 | 0,42 | 0,50 | — | — | 1 |
| BI | 41 | 188 | 1,02 | 0,30 | 0,00 | > 0,50 | 2 |
| F2 « normal » | 492 | 2 147 | 4,97 | 0,02-0,05 | 5,00 | > 0,50 | 11 |
| NO (*a*) | 3 | 47 | 8,69 | < 0,01 | | | |
| (*b*) | 0 | 46 | 15,3 | < 0,001 | | | |
| (*c*) | 3 | 90 | 22,5 | < 0,001 | | | |
| (*d*) | 5 | 86 | 16,9 | < 0,001 | | | |
| | 6 | 102 | 19,9 | < 0,001 | | | |
| F2 « NO » | 17 | 371 | 82,5 | < 0,001 | 0,83 | 0,50 | 5 |

« up » gene (D.D.L. × Nigrum)

| F2 | [r] | Total | $\chi^2_D$ | $\mathcal{P}$ | $\chi^2_H$ | $\mathcal{P}_H$ | K |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Diploid | 39 | 186 | 1,61 | 0,20 | 0,84 | 0,30-0,50 | 2 |
| NO | 3 | 80 | 19,3 | < 0,01 | — | — | 1 |

[r] frequency of the recessive phenotype (erect fruit).
$\chi^2_D$ etc... cf. table 1.

hanging fruit (up+). The results brought out in table 3 show that this gene is borne by the chromosome which corresponds to the « Noir » trisomic (NO).

## C *gene*

Just as several authors have pointed out (OHTA, 1962, QUAGLIOTTI, 1968), the presence of capsaicine in the fruit is a quantitative character. Checking by tasting does not yield very reliable results. We use a chemical test followed by fruit tasting when the chemical test is negative.

The contents of the glands found on the placenta of the ripening fruit are

recovered with the help of a spear-shaped needle. A small amount of the oily secretion is transferred onto a filter paper plate and a drop of reagent is added. The presence of capsaicine is noticed through the immediate appearing of a bluish colour. The reagent is made up of 1 per cent vanadium oxytrichloride in carbontetrachloride. None of the fruit which provided a negative reaction had any pungency. The results obtained (Table 4) show that the C gene is borne by the chromosome XI (« Jaune » trisomic: JA).

In the $F_2$ progenies resulting from this trisomic, capsaicine is found to be lacking in 40 to 50 p. 100 of the plants instead of 25 p. 100 in the control samples and in the other trisomics.

TABLE 4

*Localisation of the character: pungent fruit*
(presence of capsaicine) (C gene, DESHPANDE, 1935).

C gene (D.D.L. × « Enomi »)

| $F_2$ | [*r*] | Total | $\chi^2_D$ | $\mathcal{P}$ | $\chi^2_H$ | $\mathcal{P}_H$ | K |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Diploid | 46 | 198 | 0,33 | > 0,50 | 0,11 | > 0,50 | 2 |
| VI | 20 | 95 | 0,79 | 0,30-0,50 | — | — | 1 |
| IN | — | — | — | — | — | — | — |
| BL | — | — | — | — | — | — | — |
| VE | 50 | 193 | 1,45 | 0,20-0,30 | 0,004 | > 0,50 | 2 |
| JA (XI) | S | S | S | S | 1,15 | > 0,50 | 3 |
| OR | 24 | 97 | 0,003 | > 0,50 | — | — | 1 |
| RO | 26 | 140 | 3,08 | 0,05-0,10 | 0,37 | > 0,50 | 2 |
| PO (XII) | 40 | 191 | 1,27 | 0,20-0,30 | 0,004 | > 0,50 | 2 |
| NO | 32 | 93 | 4,39 | 0,02-0,05 | 0,157 | > 0,50 | 2 |
| BR | — | — | — | — | — | — | — |
| BI | 22 | 92 | 0,06 | > 0,50 | — | — | — |
| $F_2$ « normal » | 260 | 1 099 | 1,06 | 0,30 | 9,36 | 0,20-0,30 | 8 |
| JA (*a*) | 22 | 43 | 15,7 | < 0,001 | | | |
| (*b*) | 24 | 50 | 14,1 | < 0,001 | | | |
| (*c*) | 20 | 48 | 7,1 | < 0,01 | | | |
| $F_2$ « JA » | 66 | 141 | 35,8 | < 0,001 | 1,15 | > 0,50 | 3 |

« C » gene (D.D.L. × Nigrum)

| $F_2$ | [*r*] | Total | $\chi^2_D$ | $\mathcal{P}$ | $\chi^2_H$ | $\mathcal{P}_H$ | K |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Diploid | 52 | 261 | 3,59 | 0,05 | 0,97 | > 0,50 | 3 |
| JA | 26 | 43 | 28,8 | < 0,001 | | | |
| | 25 | 48 | 18,8 | < 0,001 | | | |
| $F_2$ « JA » | 51 | 91 | 46,8 | < 0,001 | 0,85 | 0,30-0,50 | 2 |

[*r*] frequency of the recessive phenotype (non pungen fruit as D.D.L.).
$\chi^2_D$ etc... cf. table 1.

*y gene*

The yellow fruit colour is determined by the y gene. (LIPPERT *et al.* 1965). In the control samples and in the ten trisomics tested, except for the « Indigo » trisomic (IN), we find a distribution in $F_2$ close to the theoretical 1: 3 distribution (Table 5).

As the number of plants observed in the field was small, we sowed in the glasshouse a $F_2$ sample of which we kept only the trisomics. Out of 32 plants

TABLE 5

*Localisation of the character: « Yellow mature fruit »*
(y gene, LIPPERT *et al.*, 1965).

Y gene (D.D.L. × « J. de Pignerol »)

| $F_2$ | [r] | Total | $\chi^2_D$ | $\mathcal{P}$ | $\chi^2_H$ | $\mathcal{P}_H$ | K |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Diploid | 22 | 98 | 0,34 | > 0,50 | — | — | 1 |
| VI (I) | 27 | 98 | 0,34 | > 0,50 | — | — | 1 |
| IN | S | S | S | S | — | — | — |
| BL | 18 | 56 | 1,52 | 0,20-0,30 | — | — | 1 |
| VE | 25 | 99 | 0,003 | > 0,50 | — | — | 1 |
| JA (XI) | 17 | 97 | 2,89 | 0,05-0,10 | — | — | 1 |
| OR | 30 | 145 | 1,44 | 0,20-0,30 | — | — | 1 |
| RO | 4 | 16 | 0,00 | 0,50 | — | — | 1 |
| PO (XII) | 27 | 90 | 1,20 | 0,20-0,30 | — | — | 1 |
| NO | 22 | 97 | 0,28 | > 0,50 | — | — | 1 |
| BR | 20 | 92 | 0,52 | 0,50 | — | — | 1 |
| BI | — | — | — | — | — | — | — |
| $F_2$ « normal » | 212 | 888 | 0,60 | 0,30-0,50 | 7,93 | > 0,50 | 10 |
| $F_2$ « IN » | 15 | 100 | 5,33 | 0,02 | — | — | 1 |
| $F_2$ « IN » TRIS | 1 | 32 | 8,16 | > 0,01 | — | — | 1 |

[r] frequency of the recessive phenotype (yellow fruit, as « J. de Pignerol »).
$\chi^2_D$ etc... cf. table 1.

with 25 chromosomes, only one plant was observed to have yellow fruit. It seems that it can be temporarily granted that the y gene is located on the chromosome which corresponds to the IN trisomic.

*Xantha 3 and 8 mutations*

As illustrated by the results shown in Tables 6 and 7, these two recessive mutations are borne by chromosome XI (JA trisomic). One of them (*xantha 3*) produces a number of xantha plants in $F_2$ which is slightly less than 25 p. 100 in

TABLE 6

*Localization of the character : « xantha 3 »*
(recessive mutation issued from EMS treatments, POCHARD, 1960).

*Xantha 3* gene (D.D.L. × mutant X3)

| $F_2$ | [r] | Total | $\hat{\chi}^2_D$ | $\mathcal{P}$ | $\hat{\chi}^2_H$ | $\mathcal{P}_H$ | K |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Diploid | 28 | 125 | 0,45 | 0,50 | 0,13 | > 0,50 | 2 |
| VI (I) | — | — | — | — | — | — | — |
| IN | 30 | 196 | 9,82 | < 0,0 1 | 0,02 | 0,50 | 2 |
| BL | 33 | 164 | 2,08 | 0,10-0,20 | 1,09 | 0,30 | 2 |
| VE | 27 | 185 | 10,7 | < 0,001 | 0,85 | 0,30-0,50 | 2 |
| JA (XI) | S | S | S | S | 0,33 | > 0,50 | 3 |
| OR | 25 | 114 | 0,57 | 0,30-0,50 | 0,01 | > 0,50 | 2 |
| RO | 9 | 59 | 2,99 | 0,05-0,10 | — | — | 1 |
| PO (XII) | 39 | 166 | 0,20 | > 0,50 | 1,92 | 0,10-0,20 | 2 |
| NO | 49 | 191 | 0,04 | > 0,50 | 0,76 | 0,30-0,50 | 2 |
| BR | 46 | 179 | 0,05 | > 0,50 | 2,03 | 0,10-0,20 | 2 |
| BI | 15 | 89 | 3,15 | 0,05-0,10 | — | — | 1 |
| GR* | 42 | 190 | 0,85 | 0,30-0,50 | 0,05 | < 0,50 | 2 |
| $F_2$ « normal » | 343 | 1 658 | 16,44 | < 0,001 | 15,45 | 0,10 | 11 |
| JA (*a*) | 6 | 105 | 20,8 | < 0,001 | — | — | — |
| (*b*) | 9 | 98 | 13,1 | < 0,001 | — | — | — |
| (*c*) | 7 | 91 | 14,5 | < 0,001 | — | — | |
| $F_2$ « JA » | 22 | 294 | 48,1 | < 0,001 | 0,329 | > 0,50 | 3 |
| $F_2$ « JA » TRIS | 0 | 50 | 16,7 | < 0,01 | — | — | — |

[r] frequency of the recessive phenotype = mutant type.
$\hat{\chi}^2_D$ etc... cf. table 1.
GR* (grey): Primary trisomic not yet described.

most of the so called « normal » progenies (20.6 p. 100 on an average). This is probably due to a deficit at the time of germination, the mutant plants being very stunted.

By crossing these two mutants, a $F_1$ with a normal (++) phenotype is obtained. This result indicates that the mutant genes are not alleles.

## Discussion

It is very likely that the A-o-sw1 linkage group is to be found on the chromosome which corresponds to the « Rouge » trisomic (RO).

The localization of A on this chromosome seems to have been proved. We moreover know that one of the gene belonging to the sw serie (unpublished data) is located on the same chromosome.

TABLE 7

*Localisation of the character : xantha 8*
(recessive mutation issued from EMS treatments, POCHARD, 1970).

*Xantha 8* gene (D.D.L. × mutant X8)

| $F_2$ | [*r*] | Total | $\hat{\chi}^2_D$ | $\mathcal{P}$ | $\chi^2_H$ | $\mathcal{P}_H$ | K |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Diploid | 53 | 187 | 1,11 | 0,20-0,30 | 0,65 | 0,30-0,50 | 2 |
| VI | 48 | 178 | 0,37 | > 0,50 | 1,02 | > 0,50 | 3 |
| IN | 45 | 183 | 0,02 | > 0,50 | 0,15 | > 0,50 | 2 |
| BL | 39 | 139 | 0,69 | 0,30-0,50 | 1,90 | 0,10-0,20 | 2 |
| VE | 49 | 185 | 0,22 | > 0,50 | 1,47 | 0,20-0,30 | 2 |
| JA (XI) | S | S | S | S | 0,55 | > 0,50 | 4 |
| OR | 51 | 242 | 1,99 | 0,10-0,20 | 1,01 | > 0,50 | 3 |
| RO | 18 | 81 | 0,33 | > 0,50 | — | — | 1 |
| PO (XII) | 78 | 316 | 0,02 | > 0,50 | 2,87 | 0,20-0,30 | 3 |
| NO | 48 | 201 | 0,13 | > 0,50 | 3,44 | 0,05-0,10 | 2 |
| BR | 32 | 121 | 0,14 | > 0,50 | 1,36 | 0,20-0,30 | 2 |
| BI | — | — | — | | — | — | — |
| $F_2$ « Normal » | 461 | 1 833 | 0,02 | | 4,99 | > 0,50 | 10 |
| « JA » (*a*) | 12 | 145 | 21,63 | < 0,001 | — | — | — |
| (*b*) | 9 | 73 | 6,25 | 0,01-0,02 | — | — | — |
| (*c*) | 8 | 91 | 12,75 | < 0,01 | — | — | — |
| (*d*) | 4 | 54 | 8,71 | < 0,01 | — | — | — |
| $F_2$ « JA » | 33 | 363 | 49,00 | < 0,01 | 0,55 | > 0,50 | 4 |

[*r*] frequency of the recessive phenotype (mutant type).
$\hat{\chi}^2_D$ etc... cf. table 1.

According to our results, there can be no linkage between the C and up genes, as these are situated on different chromosomes. They are not located on the same chromosome as A, which rules out the hypothesis put forward by LIPPERT *et al.*, 1966.

It would be of interest to investigate the possibility of a linkage between $L^1$ and MoA, as both are located on the same chromosome (« Brun » trisomic: BR).

Three gene have now been located on the chromosome XI (JA trisomic): C, *xantha 3* and *xantha 8*. It could be possible to draft a chromosome map in this particular case.

*Reçu pour publication en septembre 1976.*

## Acknowledgements

We thank G. SALESSES and G. LEFORT for their valuable comments on the manuscript.

## Résumé

*Localisation de gènes chez* Capsicum annuum *L. par analyse trisomique*

L'emploi des trisomiques primaires issus d'une plante haploïde de « Doux-des-Landes » a permis d'identifier les chromosomes porteurs de huit loci différents.

Le chromosome XI, petit chromosome à centromère subterminal, porte le gène C (présence de capsaïcine dans le fruit) ainsi que deux gènes contrôlant le fonctionnement des chloroplastes : *xantha 3* et *xantha 8*.

La résistance à la Mosaïque du Tabac, contrôlée par l'allèle dominant $L^i$, est portée par le chromosome donnant la trisomie BR (type « Brun »).

Le port érigé du fruit (gène up) est lié au chromosome donnant la trisomie NO (type « Noir »).

La couleur jaune du fruit mûr est liée à un allèle récessif, très probablement porté par le chromosome impliqué dans la trisomie « IN » (Indigo).

Enfin, les gènes responsables de la coloration anthocyanique intense des tiges, des feuilles et des fleurs (A et MoA) sont portés par les chromosomes donnant respectivement les trisomies RO (type « Rouge ») et BR (type « Brun »).

## References

DESHPANDE R.-B., 1935. Studies in Indian chillies. 4. Inheritance of pungency in *Capsicum annuum* L. *Indian J. agric. Sci.* **3**, 219-300.

DESHPANDE R.-B., 1939. Studies in Indian chillies. 5. Inheritance of anther color and its relation to color in petal and node in *Capsicum annuum* L. *Indian J. agric. Sci.*, **9**, 185-192.

HERMSEN J.-G.-Th., 1970. Basic information for the use of primary trisomics in genetic and breeding research. *Euphytica*, **19**, 125-140.

HOLMES F.-O., 1937. Inheritance of resistance to tobacco mosaic disease in the pepper. *Phytopathology*, **27**, 637-642.

LESLEY J.-W., 1932. Trisomic types of the tomato and their relations to the genes. *Genetics*, **17**, 545-559.

LIPPERT L.-F., BERGH D.-O. et SMITH P.-G., 1965. Gene list for the pepper. *J. Hered.*, **56**, 30-34.

LIPPERT L.-F., SMITH P.-G., et BERGH B.-O., 1966. Cytogenetics of the vegetable crops. Garden pepper, *Capsicum* sp. *Bot. Rev.*, **32**, 24-55.

OHTA Y., 1962. Physiological and genetical studies on the pungency of *Capsicum*. IV. Secretory organs, receptacles and distribution of capsaïcine in the *Capsicum* fruit. *Jap. J. Breed.* **12**, 179-183.

PETERSON P.-A., 1959. Linkage of fruit shape and color genes in *Capsicum*. *Genetics*, **44**, 407-419.

POCHARD E. et BREUILS G., 1965. La résistance du Piment (*Capsicum annuum* L.) à la Mosaïque du Tabac et au Virus 1 du Concombre. Modalités et transmission héréditaire. *C.R.* **1<sup>0</sup>** *Journ. Phytiatrie Phytopharmacie*; Marseille, 1965, 189-193. Edit. Aubanel, Avignon.

POCHARD E., 1968. Isolation of ten primary trisomics in the progeny of a haploid pepper plant (*Capsicum annuum* L.). *Proc.* **12**th *Intern. Congr. Genetics*, 1, 266.

POCHARD E. 1969. Utilisation de l'haploïdie en amélioration des plantes; application à une plante autogame : le Piment (*Capsicum annuum* L.). *Sélectionneur Fr.*, **5**, 25-35.

POCHARD E., 1970. Description des trisomiques du Piment (*Capsicum annuum* L.) obtenus dans la descendance d'une plante haploïde. *Ann. Amélior. Plantes*, **20**, 233-256.

QUAGLIOTTI L., 1968. Introduzione allo studio del carattere piccantezza nel peperone (*Capsicum* sp.). *Sementi Elette*, **14**, 12-19.

RICK C.-M. et BARTON D.-W., 1954. Cytological and genetical identification of the primary trisomics of the tomato. *Genetics*. **39**, 640-666.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (2), 267-278.

# Mise en évidence de la variabilité génétique infrapopulation par l'utilisation d'isoenzymes foliaires chez *Echinochloa crus galli* (L.) P.B.

J. GASQUEZ et J. P. COMPOINT

*Laboratoire de Malherbologie,*
*Centre de Recherches de Dijon, I.N.R.A.,*
*B.V. 1540, 21034 Dijon Cedex.*

## Résumé

Pour mesurer la variabilité génétique de plusieurs populations d'*Echinochloa crus galli*, les auteurs ont utilisé les isoenzymes foliaires de jeunes plantes comme caractères taxonomiques. Les bandes isoenzymatiques différentielles des péroxydases, estérases et phosphatases acides observées individu par individu dans chaque population ont permis de montrer l'existence d'une hétérogénéité individuelle variable selon l'origine de la population : une population issue d'une culture soumise à un désherbage sélectif (atrazine) présente une hérétogénéité plus réduite qu'une population issue d'un lieu inculte.

L'extraction et la séparation des protéines pour la reconnaissance de variations génétiques dans le règne végétal ont été déjà très largement employées (BOULTER *et al.*, 1966; DASS, 1972). Cependant les méthodes de coloration des protéines isolées n'offrent pas une résolution suffisante pour mettre en évidence des différences minimes. En revanche la haute spécificité des colorants des enzymes permet d'apprécier des quantités très faibles de produit. De plus beaucoup d'enzymes présentent plusieurs bandes en électrophorèse (SHAW, 1965) ou isoenzymes selon la définition de MARKERT, et MOLLER en 1959. Dans la pratique on désigne généralement comme isoenzymes les différentes bandes ayant une même activité enzymatique, révélées par coloration spécifique à la suite d'une électrophorèse. On a pu rapidement montrer le degré de liaison existant entre la présence et la répartition des isoenzymes et les unités génétiques (SCHWARTZ, 1960). De même la variation de certaines enzymes est directement liée aux relations génétiques entre parents et descendants hybrides (SCANDALIOS, 1964 et 1969). Il est ainsi possible d'utiliser les isoenzymes comme des marqueurs génétiques très précis (BREWER et SING, 1970; AURIAU *et al.*, 1976).

De précédentes observations nous ont montré qu'il existe des différences génétiques entre des populations d'*Echinochloa crus galli* en fonction de leur origine (GASQUEZ et COMPOINT, 1973a et 1976). Nous avons été amenés à émettre l'hypothèse selon laquelle la monoculture et l'application répétée annuellement du même herbicide (Maïs et atrazine) en un même lieu agissent vis-à-vis de la population de l'adventice comme des facteurs du milieu très sélectifs (GASQUEZ et COMPOINT, 1975). Considérant que, dans de telles conditions, la population originelle, théoriquement très diversifiée, va tendre vers un petit nombre de types résistants aux produits herbicides, nous avons essayé de mesurer la variation individuelle dans chaque population grâce aux isoenzymes, afin de vérifier notre hypothèse de départ.

En raison de la grande variabilité des systèmes enzymatiques, nous avons, dans un premier temps défini la période de végétation la plus propice à l'observation des enzymes et recherché celles qui présentent le plus d'intérêt (le plus de bandes isoenzymatiques). Puis dans chaque population, sur un grand nombre d'individus, nous avons étudié les systèmes enzymatiques retenus. Les bandes non communes à tous les individus de toutes les populations ont été repérées par leur R*f* et leur présence ou leur absence utilisée comme des caractères différentiels. Enfin, grâce à l'analyse factorielle des correspondances, nous avons comparé simultanément tous les individus en fonction de toutes les bandes différentielles.

## I. — Matériel utilisé

Pour s'affranchir des variations dues au milieu, les caryopses semés sont issus d'individus cultivés ensemble au jardin expérimental, depuis deux générations. La germination et la croissance des plantules ont été réalisées en conditions régulées dans une chambre climatisée (28 °C de température constante, 16 h. de jour et 8 h de nuit).

Quatre populations ont été utilisées en raison de leurs origines très différentes:

| Populations | Départements | Origines | pH | Types de sol | Traitements herbicides |
|---|---|---|---|---|---|
| 71-5 .......... | Côte-d'Or | Mare temporaire | 5,5 | | |
| 72-2 .......... | Camargue | Rizière semée | 6,0 | | Molinate + propanil |
| 72-9 .......... | Pyrénées-Atlantiques | Maïs | 5,0 | Al | atrazine |
| 72-12 .......... | Loiret | Betteraves | 5,5 | SA | pyramine |

Dans chacune d'elles, 48 individus ont été étudiés séparément.

Les recherches physiologiques sur la stabilité des isoenzymes chez un individu ont montré qu'il existe une variation qualitative et quantitative des bandes en fonction du développement de la plante (KESWANI et UPADHYA, 1969; BHATIA et

NILSON, 1969). Nous avons donc recherché le stade végétatif auquel les systèmes enzymatiques présentent le maximum de bandes et la plus grande stabilité pour un individu donné. A partir de 6-7 feuilles, le zymogramme de chaque plante ne présente plus de variation qualitative, les broyats ont donc été faits sur les feuilles des individus ayant atteint ce stade.

## II. — Systèmes enzymatiques analysés

Selon les espèces et les conditions de développement les enzymes mises en évidence sont très différentes et variables. Dans le règne végétal, de nombreux systèmes d'isoenzymes ont été rapportés (SHANNON, 1969; BREWER et SING, 1970). Pour notre part, nous avons pu caractériser dans les feuilles d'*Echinochloa crus galli* 11 types d'enzymes au stade 6-7 feuilles :

| | |
|---|---|
| Alcool déshydrogénases | 2 bandes communes |
| Amylases | 1 bande commune |
| Catalases | 1 bande commune |
| Estérases | 14 bandes dont 5 communes |
| Glucose 6 phosphate déshydrogénases | 1 bande commune |
| Indophénol oxydases | 4 bandes communes |
| Leucine aminopeptidases | 3 bandes communes |
| Malate déshydrogénases | 1 bande commune |
| Péroxydases | 13 bandes différentielles |
| Phosphatases acides | 13 bandes dont 3 communes |
| Phosphatases basiques | 2 bandes communes. |

Seuls ont été retenus les systèmes présentant des variations du plus grand nombre de bandes. Notre étude systématique a donc porté sur la caractérisation des estérases, des péroxydases et des phosphatases acides.

## III. — Méthodes

Le milieu d'extraction est un tampon Tris 0,1 M HCl à pH 7,5 additionné de 0,25 p. 100 de thioglycolate de sodium, 0,5 p. 100 de polyéthylène glycol et de 6 p. 100 de polyvinylpyrrolidone afin de protéger les enzymes extraites de l'oxydation et des composés phénoliques éventuellement libérés (ANDERSON, 1968; VAN SUMERE *et al.*, 1975). Le broyage des feuilles a lieu à 2 °C en présence de 0,5 ml de tampon par gramme de feuille fraîche. Les broyats sont ensuite centrifugés à 40 000 g pendant 1 h. Les surnageants sont récupérés et des échantillons de 30µl sont placés sur des gels de polyacrylamide. La technique de préparation des gels et de migration en courant pulsé est identique à celle décrite précédemment (GASQUEZ et COMPOINT, 1976).

Les révélations des différents systèmes d'enzymes ont été conduites selon des techniques développées par BREWER et SING, 1970, sur des gels coupés longitudinalement. Les bandes sont identifiées par transcription directe à partir du gel.

## IV. — Résultats

De nombreux auteurs ont montré la sensibilité des systèmes enzymatiques à des variations génétiques et la relation directe existant entre eux et les différents génotypes (SCANDALIOS, 1967). Par ailleurs l'analyse des variations isoenzymatiques apparaît être une technique d'une grande résolution pour caractériser plusieurs espèces d'un même genre (*Triticum* et *Aegilops*-NAKAI et TSUNEVAKI, 1971; *Plantago*-DUMITRESCU et CARTIER, 1971) ou des populations d'origine différente d'une même espèce (*Picea abies*-TIGERSTEDT, 1973; *Avena fatua* et *A. barbata*-MARSHALL et ALLARD, 1970). C'est pourquoi en s'appuyant sur trois ensembles isoenzymatiques simultanément pour multiplier le nombre de caractères taxonomiques mesurables nous avons cherché à savoir dans quelle mesure la variabilité génétique de plusieurs populations est fonction des pressions de sélection de leurs milieux d'origine.

La figure 1 montre les zymogrammes théoriques réunissant toutes les bandes rencontrées dans chaque population. Seules les bandes repérées sont communes à l'ensemble des individus de toutes les populations. Nous avons donc isolé 14 bandes d'estérases dont 5 communes, 13 bandes de péroxydases toutes différentielles et 13 bandes de phosphatases acides dont 3 communes. Le tableau I montre les fréquences des 32 bandes différentielles dans chaque population.

Tout d'abord on observe que les populations 71-5 et 72-12 présentent le plus de bandes (respectivement 28 bandes différentielles dont 1 commune aux 48 individus de la population et 29 dont 2 communes); toutes ces isoenzymes sont présentes chez un grand nombre d'individus. A l'opposé on ne rencontre chez les deux autres populations qu'un plus petit nombre de bandes (25 pour 72-2 dont 11 communes aux 48 individus et 24 pour 72-9 dont 11 communes); de plus les fréquences des bandes supportant la variation sont faibles : 4 bandes sur 14 de la population 72-2 et 7 sur 13 de la population 72-9 sont présentes chez moins de 20 p. 100 des individus. Ceci montre des polymorphismes différents entre chaque population : la population 71-5 présente une variabilité individuelle très importante liée à la présence d'un grand nombre de bandes différentielles; en revanche l'homogénéïté de la population 72-9 tient à l'existence d'un grand nombre de bandes communes à tous les individus de la population.

Il est possible de concrétiser ces observations en calculant l'index de polymorphisme proposé par MARSHALL et ALLARD, 1970 :

$$P = \frac{Pi(1 - Pi)}{N}$$

où P*i* est la fréquence de la bande *i* et N le nombre total de bandes (soit 40). Cet index peut varier de 0 à 0,25 valeur du polymorphisme maximal.

Pour l'ensemble des enzymes l'index prend les valeurs suivantes : P = 0,062 pour la population 72-9 (la plus homogène); P = 0,076 pour la population 72-2; P = 0,125 pour la population 72-12 et P = 0,128 pour la population 71-5 (la plus hétérogène).

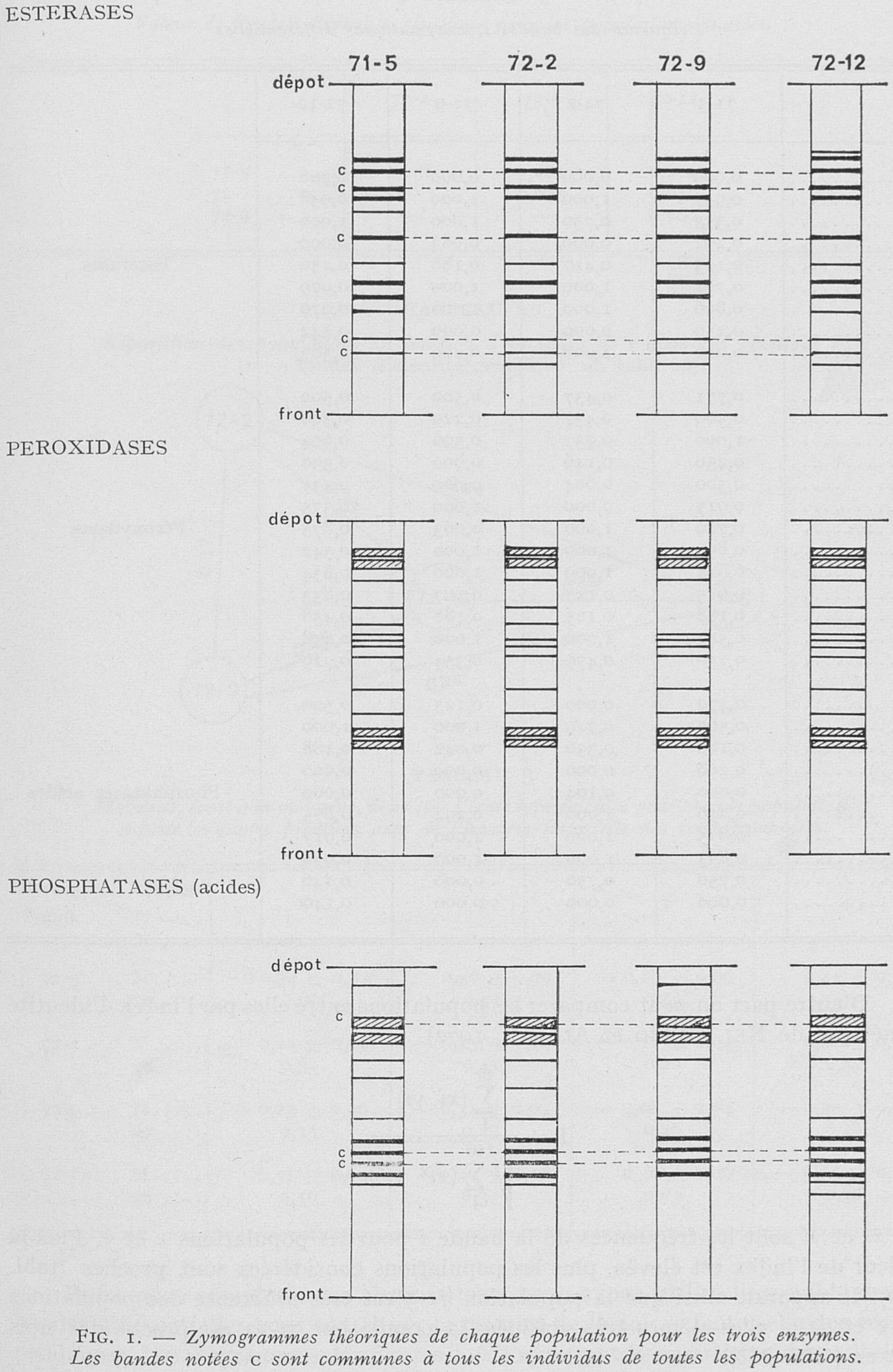



FIG. 1. — *Zymogrammes théoriques de chaque population pour les trois enzymes. Les bandes notées* C *sont communes à tous les individus de toutes les populations.*

TABLEAU I

*Fréquence des bandes isoenzymatiques différentielles*

| | 71-5 | 72-2 | 72-9 | 72-12 | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1.......... | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,708 | |
| 2.......... | 0,937 | 1,000 | 1,000 | 0,958 | |
| 3.......... | 0,375 | 0,750 | 1,000 | 1,000 | |
| 4.......... | 0,292 | 0,000 | 0,083 | 0,000 | |
| 5.......... | 0,125 | 0,417 | 0,188 | 0,250 | Estérases |
| 6.......... | 0,771 | 1,000 | 1,000 | 0,979 | |
| 7.......... | 0,896 | 1,000 | 1,000 | 0,979 | |
| 8.......... | 0,250 | 0,000 | 0,000 | 0,542 | |
| 9.......... | 0,000 | 1,000 | 0,229 | 0,583 | |
| 10.......... | 0,771 | 0,437 | 0,500 | 0,500 | |
| 11.......... | 0,500 | 0,437 | 0,229 | 0,500 | |
| 12.......... | 1,000 | 0,937 | 0,396 | 0,604 | |
| 13.......... | 0,250 | 0,146 | 0,000 | 0,396 | |
| 14.......... | 0,500 | 0,604 | 0,000 | 0,437 | |
| 15.......... | 0,917 | 0,000 | 1,000 | 0,375 | |
| 16.......... | 0,729 | 1,000 | 0,063 | 0,875 | Péroxydases |
| 17.......... | 0,896 | 1,000 | 1,000 | 0,542 | |
| 18.......... | 0,917 | 1,000 | 1,000 | 0,854 | |
| 19.......... | 0,625 | 0,125 | 0,167 | 0,833 | |
| 20.......... | 0,188 | 0,125 | 0,188 | 0,458 | |
| 21.......... | 0,542 | 1,000 | 1,000 | 0,458 | |
| 22.......... | 0,750 | 0,479 | 0,354 | 0,729 | |
| 23.......... | 0,479 | 0,000 | 0,125 | 0,500 | |
| 24.......... | 0,500 | 0,729 | 1,000 | 1,000 | |
| 25.......... | 0,188 | 0,396 | 0,042 | 0,188 | |
| 26.......... | 0,208 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | |
| 27.......... | 0,000 | 0,104 | 0,000 | 0,000 | Phosphatases acides |
| 28.......... | 0,250 | 1,000 | 0,292 | 0,875 | |
| 29.......... | 0,875 | 1,000 | 1,000 | 0,917 | |
| 30.......... | 0,833 | 1,000 | 1,000 | 0,958 | |
| 31.......... | 0,750 | 0,750 | 0,000 | 0,146 | |
| 32.......... | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,146 | |

D'autre part on peut comparer les populations entre elles par l'index d'identité génétique de NEI (CLEGG et ALLARD, 1972).

$$I = \frac{\sum_{1}^{40} (xi \ yi)}{\sqrt{\sum_{1}^{40} (xi^2 \ yi^2)}}$$

où $xi$ et $yi$ sont les fréquences de la bande $i$ pour les populations $x$ et $y$. Plus la valeur de l'index est élevée, plus les populations considérées sont proches (tabl. II*a*). Il apparaît ainsi que la population 71-5 est très différente des populations 72-2 et 72-9, elles-mêmes très voisines; la population 72-12 est proche des trois autres (tabl. II*b*).

TABLEAU 2*a*

*Valeur de l'index d'identité génétique pour les populations étudiées*

| | 72-2 | 72-9 | 72-12 |
|---|---|---|---|
| 71-5 ....... | 0,158 | 0,161 | 0,614 |
| 72-2 ....... | — | 0,635 | 0,650 |
| 72-9 ....... | — | — | 0,700 |

TABLEAU 2*b*

*Répartition des populations en fonction d'un index de « distances génétique »* (1 — l'index d'identité génétique; cf. tabl. 2*a*).

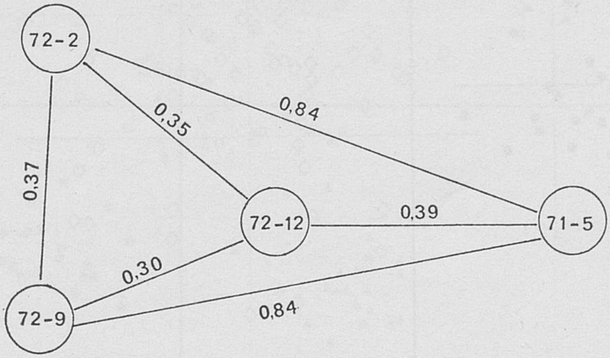



TABLEAU 3

*Moyenne, écart à la moyenne, deux fois l'écart type calculés pour chaque population et pour les quatre premiers axes de l'analyse factorielle des correspondances*

| Popul. \ Axes | | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|---|---|
| 71-5 | M..... | — 0,34 ± 0,11 | 0,36 ± 0,09 | — 0,16 ± 0,09 | 0,11 ± 0,1 |
| | 2σ .... | 0,60 | 0,50 | 0,52 | 0,70 |
| 72-2 | M..... | 0,21 ± 0,06 | — 0,25 ± 0,04 | — 0,21 ± 0,04 | 0,26 ± 0,04 |
| | 2σ .... | 0,33 | 0,41 | 0,22 | 0,32 |
| 72-9 | M..... | — 0,23 ± 0,06 | — 0,31 ± 0,07 | — 0,08 ± 0,04 | — 0,32 ± 0,01 |
| | 2σ .... | 0,35 | 0,22 | 0,26 | 0,12 |
| 72-12 | M..... | 0,31 ± 0,09 | 0,20 ± 0,06 | 0,30 ± 0,06 | — 0,05 ± 0,05 |
| | 2σ .... | 0,50 | 0,31 | 0,73 | 0,36 |

Enfin pour compléter ces observations, nous avons utilisé l'ensemble des 32 bandes différentielles pour constituer la matrice de l'analyse factorielle des correspondances. Les diagrammes des figures 2 et 3 montrent la répartition des individus

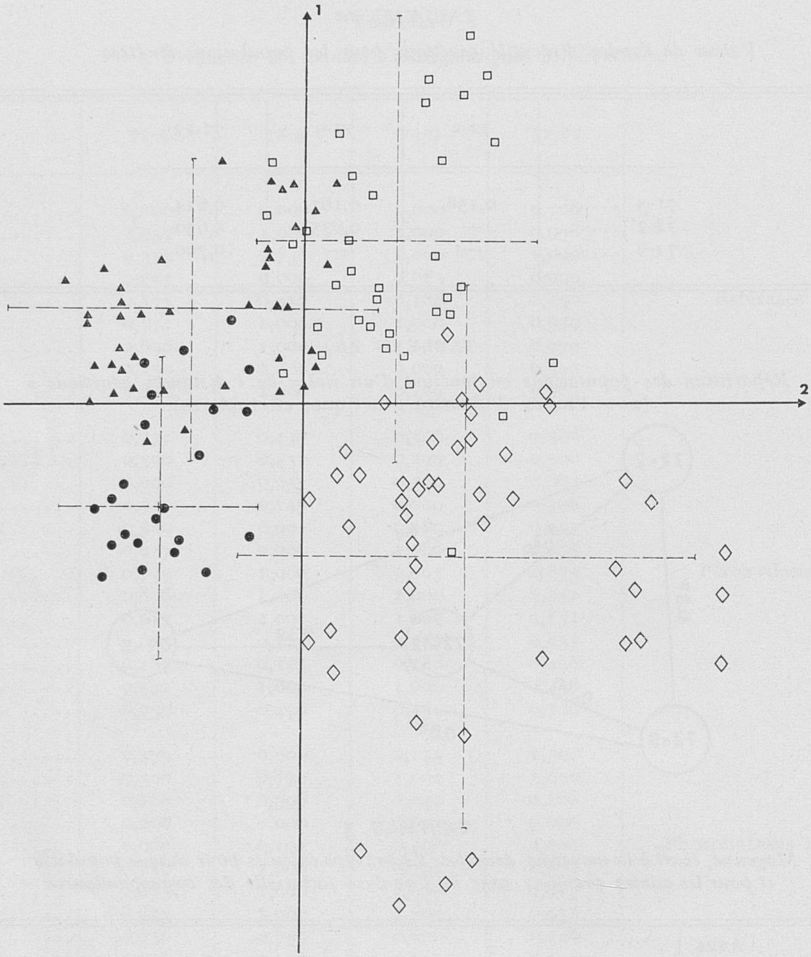



FIG. 2. — *Diagramme de l'analyse factorielle des correspondances situant les individus selon les axes 1 et 2*

◇ Individus de la population 71-5
▲ Individus de la population 72-2
● Individus de la population 72-9
□ Individus de la population 72-12

de chaque population en fonction des axes 1, 2 et 4, auxquels on peut donner une signification écologique. Chaque population, caractérisée par un figuré particulier, s'individualise facilement malgré une grande proximité. Dans le tableau III, nous avons fait figurer la moyenne et la valeur de deux fois l'écart-type (2 σ) calculées à partir des coordonnées des individus de chaque population pour les quatre premiers axes. En portant sur les figures 2 et 3 autour de la moyenne ainsi calculée, la valeur 2 σ, il est possible de donner une idée du polymorphisme de chaque population puisque 95 p. 100 des individus de la population sont théoriquement compris dans la portion de plan ainsi délimitée.

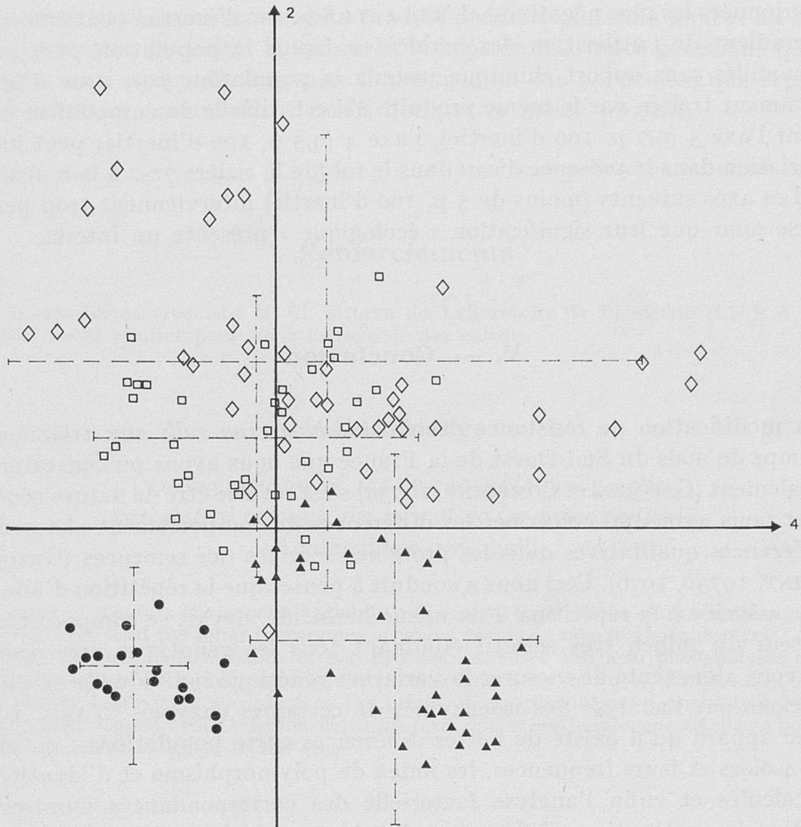



FIG. 3. — *Diagramme de l'analyse factorielle des correspondances situant les individus selon les axes 2 et 4* (mêmes symboles que dans la fig. 2).

On peut aussi noter que malgré de grandes proximités, les individus de chaque population se ressemblent plus entre eux qu'ils ne ressemblent à ceux des autres populations et confirmer que la population 71-5 est la plus polymorphe et que la population 72-9 est la moins diversifiée. De plus, les deux populations les plus homogènes (72-2 et 72-9) semblent tendre à se séparer chacune en deux parties; cela peut être le signe du début d'une sélection disruptive.

La dispersion des individus de chaque population dans les diagrammes de l'analyse factorielle des correspondances (fig. 2 et 3) concorde avec les observations précédentes. Cependant la comparaison du classement des points moyens de chaque population et de l'origine écologique de celles-ci permet de rechercher une signification aux axes factoriels et de définir les facteurs écologiques qui pourraient être à l'origine de la variation observée.

Ainsi l'axe 1 (13,5 p. 100 d'inertie) qui est le plus discriminant dans l'analyse peut caractériser la présence ou l'absence de culture (la population de lieu inculte a

les coordonnées les plus négatives). L'axe 2 (11,8 p. 100 d'inertie) peut être assimilé à un gradient de l'utilisation des herbicides depuis la population 71-5 issue de lieux mouillés sans apport chimique jusqu'à la population 72-9 issue d'une sole constamment traitée par le même produit. S'il est difficile de caractériser écologiquement l'axe 3 (9,7 p. 100 d'inertie), l'axe 4 (9,5 p. 100 d'inertie) peut indiquer une variation dans la présence d'eau dans le sol (de la rizière 72-2 à la maïziculture 72-9). Les axes suivants (moins de 5 p. 100 d'inertie) interviennent trop peu dans l'analyse pour que leur signification « écologique » présente un intérêt.

## V. — Conclusion

La modification de résistance des *Echinochloa crus galli* aux triazines dans les champs de maïs du Sud-Ouest de la France que nous avons pu constater expérimentalement (Gasquez et Compoint, 1973*a*) s'est révélée être de nature génétique. En effet nous avons pu confirmer les différences de comportement observées par des différences qualitatives dans les protéïnes solubles des semences (Gasquez et Compoint, 1973*b*, 1976). Ceci nous a conduit à penser que la répétition d'une même culture, associée à la répétition d'un même herbicide, devait se comporter comme un facteur du milieu très sélectif éliminant tous les génotypes non résistants. Nous avons alors tenté de mesurer la variation génétique individuelle de plusieurs populations par l'analyse des isoenzymes de certaines enzymes (Yang, 1975). Il est ainsi apparu qu'il existe de nettes différences entre populations : en effet les bandes isolées et leurs fréquences, les index de polymorphisme et d'identité génétique calculés et enfin l'analyse factorielle des correspondances montrent une répartition isoenzymatique différente selon les populations. La population issue de champs de maïs présente une certaine stabilité liée à la présence d'un faible nombre de bandes différentielles infrapopulation et à des fréquences très élevées ou très faibles de celles-ci; en revanche le polymorphisme de la population issue de terrains vagues se caractérise par un nombre de bandes plus élevé et l'absence de fréquences extrêmes. Il sera nécessaire de confirmer ces observations avec de nouvelles populations et en étudiant pour chacune un plus grand nombre d'individus.

Ainsi, malgré l'absence de correspondance systématiquement biunivoque entre les bandes détectées et les formes génétiques (Mossé, 1973), il semble que la population issue de champs de maïs comporte moins de génotypes que la population de mares temporaires.

D'autre part pour préciser ces résultats et tenter de montrer la disparition de certains génotypes et le développement d'autres, liés à la résistance au produit herbicide, nous avons mis en place une expérimentation portant sur l'étude du comportement, pendant plusieurs générations, de deux populations du Sud-Ouest de la France, l'une issue d'une défriche, l'autre d'un champ de maïs. Cette expérimentation portera sur la mesure de la variabilité génétique de chaque individu et de sa descendance dans chaque population après l'application d'un herbicide. Ce programme associé à l'étude du comportement d'une série de populations

régulièrement traitées avec le même produit pendant plusieurs années au champ, devrait permettre de définir la vitesse et le type de résistance génétique que peut développer une espèce de mauvaise herbe face au cas particulier que représente une monoculture constamment désherbée par le même produit.

*Reçu pour publication en juillet 1976.*

## Remerciements

Nous remercions vivement M. Cl. Milier du Laboratoire de Biométrie (I.N.R.A. Nancy) qui a bien voulu réaliser pour nous l'ensemble des calculs.

## Summary

*Demonstration of the infrapopulation genetic variability through the use of foliar isoenzymes in* Echinochloa crus galli

In order to measure the genetic variability of several populations of *Echinochloa crus galli*, the authors have used the foliar isoenzymes of young plants as taxonomic characters. Through the differential isoenzymatic bands of peroxydases, esterases and acid phosphatases observed in each plant separately within each population there has been shown to exist a variable heterogeneity among individuals according to the origin of the population: a population which has grown in a field cleaned with a selective herbicide (atrazine) is less heterogeneous than a population which has grown in an uncultivated area.

## Références bibliographiques

Anderson J.-W., 1968. Extraction of enzymes and subcellular organelles from plant tissues. *Phytochemistry*, **7**, 1973-1988.

Auriau P. *et al.*, 1976. Variabilité génétique de la composition des gliadines, gluténimes, β amylases, α estérases, péroxydases et phosphatases acides du blé (*T. aestivum*). *Ann. Amélior. Plantes*, **26**. (1), 51-66.

Bhatia C.-R., Nilson J.-P., 1969. Isoenzyme changes accompanying germination of wheat seeds. *Biochemical genetics*, **3**, 207-214.

Boulter D., Thurman D.-A., Thurner B.-L., 1966. The use of disc electrophoresis of plant proteins in systematics. *Taxon*, **15**, 135-143.

Brewer G.-J., Sing C.-F., 1970. *An introduction to isozyme techniques*. Academic Press, New York.

Clegg M.-T., Allard R.-W., 1972. Patterns of genetic differentiation in the slender wild oat species, *Avena barbata*. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **69** (7), 1 820-1 824.

Dass M.-C., 1972. Analysis of species relationships in *Avenae* by thin layer chromatography and disc electrophoresis. *Canad. J. Genet. Cytol.*, **14**, 305-316.

Dumitrescu M., Cartier D., 1971. Étude électrophorétique des isopéroxydases chez quelques espèces du genre *Plantago* (Tourn.) L. *C.R. Acad. Sci.* Paris, **272**, Ser. D., 1 495-1 498.

Gasquez J., Compoint J.-P., 1973*a*. Premières données taxonomiques sur *Echinochloa crus galli* (L.) P.B. et espèces voisines par électrophorèse en tube sur gel de polyacrylamide. *C.R. Acad. Sci.* Paris. **277**, Ser. D., 837-840.

Gasquez J., Compoint J.-P., 1973*b*. Étude préliminaire de la variation infraspécifique chez *Echinochloa crus galli* (L.) P.B. — *IVe Colloque sur l'écologie et la biologie des mauvaises herbes*, Marseille.

GASQUEZ J., COMPOINT J.-P., et BARRALIS G., 1975. Biologie et différenciation taxonomique d'une mauvaise herbe *Echinochloa crus galli* (L.) P.B. *Proc. Europ. Weed Research Soc. Symp. Stat. and Contr. Grassweeds* (Paris), 330-339.

GASQUEZ J., COMPOINT J.-P., 1976. Apport de l'électrophorèse en courant pulsé à la taxonomie d'*Echinochloa crus galli* (L.) P.B. *Ann. Amélior. Plantes*, **26** (2), 345-355.

KESWANI C.-L., UPADHYA M.-D., 1969. Isoenzymes changes during seed germination of saguaro cactus (*Carnegiea gigantea*). *Physiol. Plant.*, **22**, 386-391.

MARKERT C.-L., MOLLER F., 1959. Multiple forms of enzymes tissues, ontogenetic and species specific patterns. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **45**, 753-763.

MARSHALL D.-R., ALLARD R.-W., 1970. Isozyme polymorphisms in natural populations of *Avena fatua* and *A. barbata*. *Heredity*, **25**, 373-382.

MOSSÉ J., 1973. Hétérogénéïté et polymorphisme des protéines et isoenzymes végétales : Aspects moléculaires et évolutifs. *Physiol. vég.*, **11** (2), 361-384.

NAKAI Y., TSUNEWAKI K., 1971. Isozyme variations in *Aegilops* and *Triticum*. I. — esterase isozymes in *Aegilops* studied using the gel isoelectrofocusing method. *Japan J. Genet.*, **46** (5), 321-336.

SCANDALIOS J.-G., 1964. Tissue specific isozyme variations in maize. *J. Heredity*, **55**, 281-285.

SCANDALIOS J.-G., 1967. Genetic control of alcohol dehydrogenase isozymes in maize. *Biochemical Genet.*, **1**, 1-8.

SCANDALIOS J.-G., 1969. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: a review. *Biochemical Genet.*, **3**, 37-79.

SHANNON L.-M., 1969. Plant isoenzymes. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, **19**, 187-210.

SHAW C.-R., 1965. Electrophoretic variations in enzymes. *Science*, **149**, p. 936.

SCHWARTZ D., 1960. Genetic studies on mutant enzymes in maize: Synthesis of hybrid enzymes by heterozygotes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **46**, 1 210-1 215.

TIGERSTEDT P.-M.-A., 1973. Studies on isozyme variation in marginal and central populations of *Picea abies*. *Hereditas*, **75**, 47-60.

VAN SUMERE C.-F. *et al.*, 1975. Plant proteins and phenolics, in *The Chemistry and biochemistry of plant proteins*. HARBONNE J.-B., VAN SUMERE C.-E. Academic Press, Londres.

YANG J.-C., 1975. Isoenzyme polymorphism in provenances of douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco var. *menziesii*). Ph. D. Thesis, Oregon state University.

# RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 29,7, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles *séparées* seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

*Au début de chaque mémoire*, on indiquera : — *le titre du mémoire;* il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes); — *le nom des auteurs*, précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de...; *le nom de l'établissement*, dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

*Les mémoires* seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :
a) *résumé* (250 mots max.) suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé*, en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences; d) *résultats*, à présenter de la manière la plus brève possible; e) *discussion* et *conclusion;* f) *titre et résumé* en anglais ou destiné à être traduit en anglais comportant une analyse *complète* de l'article; g) *remerciements* pour les collaborations, les fonds, les dons...; h) *références bibliographiques*.

*Les travaux originaux en anglais* doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français *très complet*. Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

*Pour les autres documents* (notes, mises au point, revues, rapports, etc.), l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

*Les références bibliographiques* doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (DUPONT et DUVAL, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier sera mentionné, suivi de *et al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

*Pour les articles :* le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivi (s) des initiales du (des) prénom (s); la date de parution de l'article; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues mentionnées) : le titre du périodique en abrégé, selon la *World List of Scientific Periodicals*, ou le *Bulletin Signalétique du C.N.R.S.;* le volume, la première et la dernière page de l'article.

*Pour les ouvrages :* le nom de l'auteur avec les initiales du prénom; la date de l'édition; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine); le volume; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs; le nom de l'éditeur; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d' «Abstracts», le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

*Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part.* Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux. Il est demandé aux auteurs de bien vouloir fournir une traduction anglaise des titres et contenus des tableaux, figures, photographies etc...

*Le titre courant* pour les hauts de page devra être fourni en 40 signes au maximum.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

*Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils* seront envoyés soit *à l'état définitif* soit *à l'état de projets*, leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I.N.R.A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : *soit* × 0,5, *soit* × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des *Annales* est : 12,5 × 19 cm; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

*Photographies :* Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos : 9 × 12; 4 photos : 9 × 5,5; 6 photos : 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Il est demandé d'indiquer sur le manuscrit, dans la marge, en regard du texte, l'emplacement souhaité des tableaux et figures.

*Envoi du manuscrit :* M. RÉRAT; Centre National de Recherches zootechniques, 78350 Jouy-en-Josas France. On demande deux exemplaires.

*Correction des épreuves :* les épreuves que les auteurs recevront à corriger sont à retourner, après correction, à cette même adresse.

*Le Directeur de la publication* : M.-L. Cagnac

FD Imprimerie Alençonnaise, rue Édouard Belin. 61002 Alençon

*Dépôt légal : 2e trimestre 1977. N° d'impression : 84.496*

CPPAP n° 26633

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE
I. N. R. A.
Centre de Recherches de RENNES
STATION D'AMÉLIORATION DES PLANTES
B.P. 29 - 35650 LE RHEU
Tél. : (99) 00.71.92

# annales de l'amélioration des plantes

Trimestriel

1977

Vol. 27. N° 3

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs
et de l'institut national de la Recherche agronomique
à l'exception des résumés

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (3), 281-329.

# Amélioration des populations, méthodes de sélection et création de variétés

## I. — Synthèse sur les problèmes généraux et sur les bases théoriques pour la sélection récurrente intra-population

A. GALLAIS

*Station Amélioration des Plantes fourragères, I.N.R.A., 86600 Lusignan*

## Résumé

Dans cet article nous soulignons l'importance de l'amélioration des populations avant la création de lignées ou de variétés. Cette amélioration doit faire appel à la recombinaison, d'où l'intérêt des schémas de sélection récurrente. La structure d'un cycle de sélection est abordée de façon très générale par l'introduction d'opérateurs de transformation. Cela permet de donner une expression du progrès génétique où figurent tous les paramètres caractérisant une méthode de sélection. Nous n'avons envisagé que l'amélioration intra-population : sélection individuelle phénotypique, sélection individuelle sur différents types de descendances, sélection familiale et sélection combinée.

L'intérêt possible de la consanguinité est discuté. Au niveau de l'amélioration des populations, elle doit être limitée; elle peut augmenter le progrès par cycle mais risque de diminuer le progrès par unité de temps. Par contre elle se justifie plus pour la création de variétés.

La réponse corrélative à la sélection intra-population de la valeur en autofécondation est envisagée. L'effet de l'arrêt de la sélection est précisé.

Une revue des principaux résultats expérimentaux sur Maïs n'apporte pas assez de précision pour la comparaison des efficacités des différentes méthodes. Une étude théorique plus poussée de ces comparaisons semble possible et nécessaire.

## Introduction

L'amélioration d'une espèce est une entreprise économique qui doit être conçue pour avoir des progrès génétiques assez importants à court terme sur certains caractères, tout en préparant des progrès génétiques plus importants à long terme sur d'autres caractères ou sur les mêmes, avec la meilleure utilisation possible des moyens disponibles. L'examen des résultats sur différentes espèces

végétales montre que des progrès incontestables ont été réalisés. Pour le rendement, l'amélioration semble souvent le résultat d'une meilleure adaptation au milieu et d'une action sur certains « facteurs » du rendement, plus héritables que le rendement lui-même. Chez les plantes allogames il y a aussi eu une certaine utilisation de l'hétérosis.

Dans un souci d'efficacité à court terme, le sélectionneur a surtout cherché à exploiter directement la variabilité par la création de variétés. Ainsi par exemple, pour les variétés hybrides, une méthode classiquement utilisée consiste à créer un grand nombre de lignées et à détecter celles qui donnent les meilleurs hybrides. Dans la création de variétés synthétiques, le sélectionneur se limite souvent à l'intercroisement (synthèse) des plantes qui ont la meilleure aptitude à la combinaison. Chez les autogames, la sélection généalogique est largement utilisée pour recombiner les caractères de certaines lignées.

Ces méthodes ont permis des progrès certains. Mais, sont-elles suffisantes pour avoir encore une efficacité à long terme? Tout naturellement le sélectionneur a pensé à cumuler plusieurs cycles de sélection, c'est-à-dire à repartir des meilleurs croisements où variétés synthétiques pour obtenir de nouveaux parents (lignées, clones...). Mais le problème est alors de progresser tout en conservant une certaine variabilité, c'est-à-dire en évitant une diminution trop rapide de celle-ci.

Or, il semble assez évident que la création directe de variétés à partir du matériel de départ, sans une assez large conservation ou amélioration de celui-ci conduit à une perte de variabilité qui peut être très importante, au point de limiter le progrès génétique des « cycles » suivants. (GALLAIS, 1974 c). Compte tenu du coût de la sélection, il est alors très important de se définir une *stratégie de la création de variétés* pour avoir à court terme et à long terme le progrès génétique le plus important avec les moyens disponibles.

## I. — Importance de l'amélioration des populations

### 1. — *Étude critique d'un exemple*

Nous allons examiner sommairement l'effet de la sélection directe dans le matériel de départ, en régime d'autofécondation, dans le but de créer des lignées. C'est une méthode classiquement utilisée chez les allogames en vue de la création de variétés hybrides, mais elle peut aussi correspondre à la *sélection généalogique* à partir d'un ensemble $F_1$.

La première difficulté est de *retenir les gènes favorables* (*) qui sont à *faible fréquence;* il y a moins de risque lorsque les fréquences sont élevées. *Avec épistasie,* c'est-à-dire interaction entre les gènes non homologues, ce sont des combinaisons favorables de gènes qu'il faudrait retenir; la probabilité de non choix de telles associations sera donc importante. *Une faible héritabilité* (au sens large, c'est-à-dire une forte influence du milieu) aggrave les risques de mauvais choix au départ. S'il y a mauvais choix, la *situation est irréversible.*

Le deuxième inconvénient est lié à l'effet de l'autofécondation. La *force de fixation* de ce système de reproduction *limite la recombinaison.* Outre que c'est le système en consanguinité le plus strict, (si l'on excepte l'haploïdisation suivie de diploïdisation), il ne faut pas oublier que la fixation se fait par blocs chromosomiques de longueur très importante (BENNETT, 1954; FISHER, 1954; HANSON,

(*) Le terme « favorable » est très général, il ne fait aucune hypothèse sur les effets génétiques, ni sur le critère d'appréciation de l'effet.

1959; DEMARLY, 1975). Avec l'effet de la sélection, cela va se traduire par une perte de *caractères favorables* liés à des caractères défavorables, ou alors par une fixation de *caractères défavorables*. L'autofécondation ne permet donc pas une sélection efficace sur plusieurs caractères. Par contre, l'alternance sélection et intercroisement favorisera la recombinaison.

Pour les espèces allogames avec un effet dépressif de consanguinité marqué mais variable, celui-ci peut masquer l'effet de certains gènes favorables qui apparaîtrait à des niveaux plus hétérozygotes. C'est une situation d'épistasie ou des cas extrêmes sont bien connus (cas de déficients chlorophylliens) (GALLAIS, 1976 c). Les travaux de MARTIN et HALLAUER, (1976) sur Maïs montrant qu'il y a plus d'épistasie apparente chez les lignées faibles que chez les lignées vigoureuses tendent à illustrer un mécanisme analogue. Une telle situation compromettra donc encore l'efficacité de la sélection pendant l'autofécondation.

Enfin, à cette liste d'inconvénients de l'autofécondation directe, il faut ajouter le simple *risque de dérive* dû à la limitation de l'espace. Il est possible de montrer que ce risque est plus faible en panmixie (GALLAIS, calculs non publiés).

Cet exemple montre que l'autofécondation prolongée n'apparaît pas comme une méthode d'amélioration du matériel de départ; elle utilise seulement une part de la variabilité potentielle. Elle conduit à un nombre trop limité de bons géniteurs, d'où le risque d'un fort apparentement des variétés. Elle est efficace à court terme, elle ne l'est pas à long terme; elle tendrait plutôt à conduire à une impasse. Ainsi, chez le Maïs, la création de lignées de 2$^{e}$ cycle, 3$^{e}$ cycle, c'est-à-dire par autofécondation à partir d'hybrides simples de lignées de 1$^{er}$ cycle, 2$^{e}$ cycle, ne semble guère conduire à une amélioration de la performance des hybrides; par contre, il semble qu'il y ait eu amélioration de la valeur intrinsèque des lignées. La succession obtention de lignées-hybridation reste cependant une méthode de création de variétés.

### 2. — *Comment poser le problème d'une façon générale*

Le problème pour le sélectionneur est d'arriver à la création de la meilleure variété possible (hybride ou variété synthétique) avec le matériel dont il dispose. Si on considère la distribution de toutes les variétés (V) possibles (Fig. 1) de variances génétique ${}_{G}\sigma^2_V$ et phénotypique ${}_{P}\sigma^2_V$, la valeur attendue des meilleures variétés, $\overline{V}_m$ serait

$$\overline{V}_m = E(V) + ih_{G}\sigma_V \qquad (1)$$

avec $h^2 = {}_{G}\sigma^2_V / {}_{P}\sigma^2_V$ et $i$ intensité de la sélection entre variétés. De plus, nous avons montré dans différents travaux (cités en référence par GALLAIS, 1974 d) que E (V) se relie à la moyenne $\mu$ de la population de référence (de départ) :

E(V) = $\mu$ + effet de consanguinité + effet de déséquilibre de linkage (s'il y a épistasie). (2)

Pour des variétés hybrides, chez les diploïdes, l'effet de la consanguinité sera nul. Il n'en sera pas de même chez les autopolyploïdes ou avec des variétés synthétiques, quelle que soit la ploïdie (GALLAIS, 1973b).

Les expressions (1) et (2) montrent alors trois niveaux d'action possibles pour rendre maximum $\overline{V}_m$ ($i$ étant considéré fixé) :

1 — l'augmentation de $\mu$ par l'amélioration de la population de départ (matériel de base)

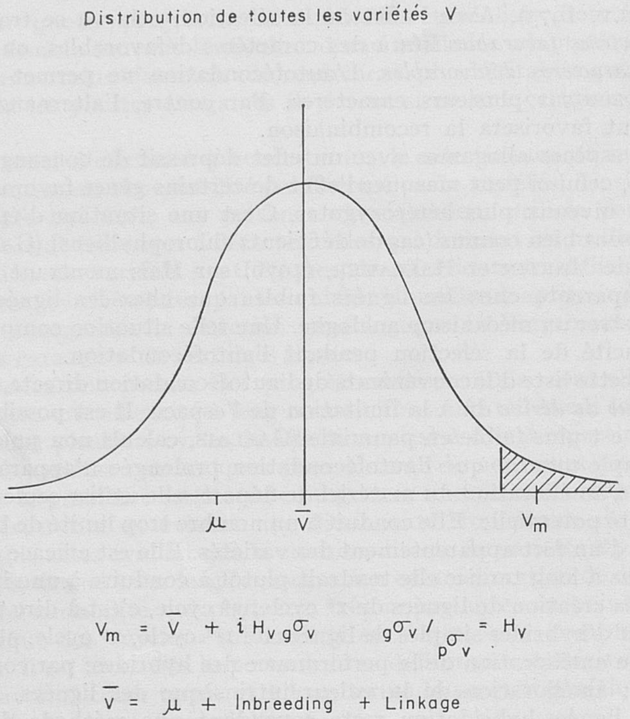



FIG. 1. — *Facteurs influençant la valeur d'une variété particulière.*
$H_v^2$ *héritabilité entre variétés,* $_G\sigma_v^2$, $_P\sigma_v^2$,
*variances génétique et phénotypique entre variétés,* μ *moyenne du matériel de base.*

2 — l'augmentation de [E(V) — μ] par le choix d'un type de variété diminuant les effets défavorables dus à la structure génétique (et réciproquement, augmentant les effets favorables),

3 — l'augmentation de la variabilité génétique entre variétés, par l'utilisation de certains systèmes de reproduction et la diminution de la variance due au milieu.

Dans les méthodes traditionnelles de l'amélioration des plantes, pour diverses raisons dont l'efficacité à court terme est la principale, l'effort n'a pratiquement porté que sur les deux derniers niveaux et surtout sur le dernier. Cela est particulièrement net pour les variétés hybrides chez les diploïdes où il n'y avait pas de problèmes génétiques dans le type d'hybride à créer : en théorie, il faut produire l'hybride simple. Chez les autopolyploïdes, le problème est plus complexe, et de même avec des variétés synthétiques quelle que soit la ploïdie; aussi, le deuxième niveau a-t-il pris de l'importance pour ces situations afin de limiter l'effet défavorable de la consanguinité. Des travaux récents (GALLAIS 1973 b, 1974 b; SCHNELL, 1973 a, b) tendent d'ailleurs à montrer qu'en présence d'épistasie et de déséquilibre de linkage, un hybride simple ne permettrait pas toujours l'utilisation maximum du phénomène d'hétérosis même chez les diploïdes. Des hybrides trois voies ou des hybrides doubles pourraient permettre d'obtenir les meilleurs hybrides. Certains résultats expérimentaux cités par SCHNELL (1973 b, 1975) semblent confirmer cela.

Pourtant, le succès de la création de variétés dépend dans une large mesure de la valeur du matériel de départ. Dans toute méthode de sélection les chances de succès dépendent de la fréquence des gènes favorables pour le critère considéré. Il faut d'abord augmenter cette fréquence (et la fréquence des associations de gènes favorables) pour éviter une dérive génétique et une perte de variabilité importante et pour diminuer la dépression due à la consanguinité (GALLAIS 1974c). Même dans le cas où le sélectionneur cherche à utiliser la vigueur hybride, cette augmentation de la fréquence des associations de gènes favorables apparaît aussi essentielle, puisqu'une partie assez importante de l'hétérosis apparaît fixable (GALLAIS 1974 *c*, 1975 *e*). Il serait possible de concevoir une amélioration de la valeur des lignées parallèlement à l'amélioration de leur valeur en combinaison. Cette fixation de combinaisons favorables sera aussi très importante pour les variétés synthétiques qui perdront moins de vigueur au cours des générations de multiplication.

### 3. — *Proposition d'une stratégie générale*

a) *Principe.*

Pour diminuer les risques de perte de gènes favorables et favoriser au maximum la recombinaison dans le but d'augmenter la fréquence des associations de gènes favorables, il apparaît nécessaire de limiter l'utilisation de la consanguinité et d'intercroiser les plantes sélectionnées, et ceci pendant plusieurs cycles de sélection. Plusieurs générations d'intercroisement pourront d'ailleurs être réalisées avant sélection (HANSON, 1959; RIVES, 1975, 1976). La fig. 2 représente une stratégie de sélection permettant de concilier efficacité à court terme et efficacité à long terme (GALLAIS, 1976). L'axe central de cette stratégie est l'amélioration du matériel de base. Il est formé par l'accumulation de plusieurs cycles de sélection, le matériel de sortie d'un cycle, obtenu par intercroisement en panmixie contrôlée du matériel sélectionné, servant de matériel d'entrée au cycle suivant; la sélection est *dite récurrente* (fig. 3). Elle pourra se ramifier à n'importe quel cycle dans la création de variétés (lignées, variétés hybrides, variétés synthétiques).

Le système proposé peut être considéré comme un *système ouvert* tolérant à différentes étapes l'introduction de matériel nouveau. Cependant, il faut être conscient du fait que cette introduction pourra remettre en cause des progrès réalisés sur certains caractères; elle sera à faire avec précaution. Une autre solution consiste à avoir une ou plusieurs *populations de réserve*, maintenues avec une faible intensité de sélection (sélection massale) et dans lesquelles une nouvelle variabilité peut être introduite sans problème. De telles populations permettront une certaine *coadaptation des gènes avant sélection*, d'où il résultera une meilleure utilisation des effets d'épistasie. Une telle approche se justifie aussi pour l'introduction d'un caractère monofactoriel, affectant une fonction importante. En effet, chez le Maïs, de nombreux exemples montrent un certain échec de la méthode « back-cross » avec un effet variable et souvent défavorable du gène selon le génome où il est placé (RUSSEL, 1976). L' « adaptation » des gènes au génome peut donc se faire par une amélioration de populations. Pour les mêmes raisons ce n'est qu'avec une telle amélioration que l'utilisation de la mutagenèse prendra toute sa valeur (DOMMERGUES, 1976).

Sous une forme un peu moins générale, ces principes de la sélection récurrente étaient énoncés dès 1919 par HAYES et GARBER et de façon indépendante par

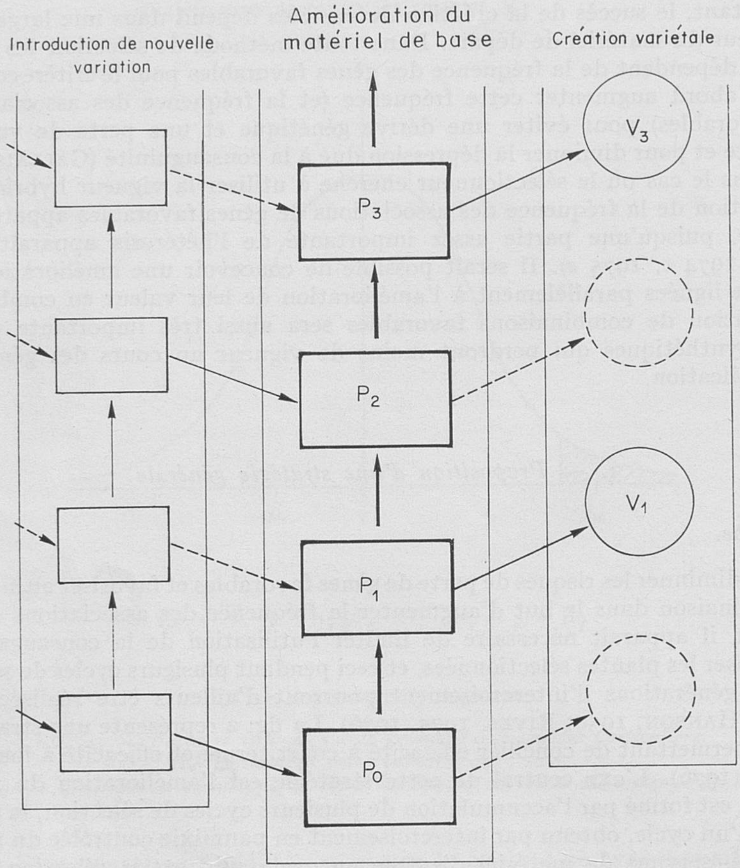



FIG. 2. — *Stratégie de la sélection et de la création de variétés.*

Une flèche représente le passage d'une structure (population) à une autre par l'action d'opérateurs de transformation (Sélection + reproduction), en pointillé elle représente un passage possible.

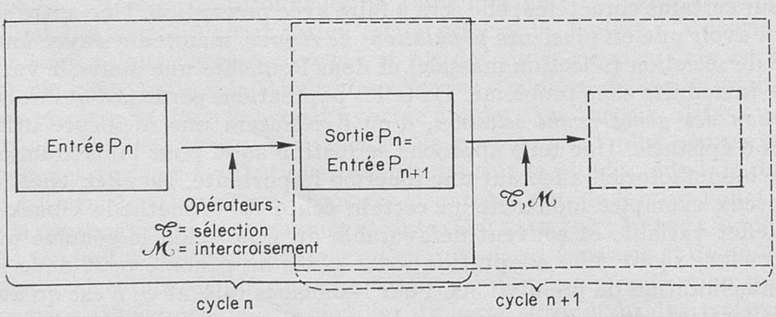



FIG. 3. — *Schéma d'un cycle d'une sélection récurrente.* $\mathcal{C}$ *= ensemble des opérations à partir d'individus pris dans* $P_n$*, conduisant à la sélection des unités qui intercroisées entre elles (système* $\mathcal{M}$*) formeront la génération suivante.* $\mathcal{M}$ *peut représenter plusieurs générations de panmixie sans sélection.*

EAST et JONES en 1920. Mais ce n'est qu'en 1945 que HULL introduisait le terme de sélection récurrente, en le limitant au cas où il y a recombinaison (intercroisement) du matériel sélectionné à chaque cycle de sélection. Ces méthodes ont été largement utilisées sur Maïs aux U.S.A. en vue de la fabrication de variétés hybrides. Nous examinerons sommairement leurs résultats dans la dernière partie de cet article. Sur plantes fourragères, on trouve aussi quelques exemples d'application en vue de la création de variétés synthétiques (voir les premières études de JOHNSON 1956, sur Mélilot).

La sélection récurrente peut aussi s'appliquer efficacement aux plantes autogames. MATZINGER *et al.* (1976) ont déjà réalisé plusieurs cycles de sélection récurrente sur Tabac et ont obtenu un progrès génétique important pour des caractéristiques foliaires. Pour l'amélioration du rendement en grain des céréales, JENSEN (1970) et REDDEN (1974) ont souligné le principe essentiel d'intercroisement. Pour faciliter cela, la stérilité-mâle génétique et cytoplasmique peut être introduite dans le matériel, comme SUNESON l'avait déjà proposé en 1951 (voir aussi SUNESON, 1956). Les différents schémas de sélection récurrente des allogames pourront alors être appliqués aux autogames. GILMORE (1964) et DOGGETT et EBERHART (1968) en ont précisé quelques modalités d'utilisation au niveau d'une sélection récurrente réciproque, et d'une sélection récurrente sur la valeur en autofécondation.

b) *Structure d'un cycle de sélection.*

Dans le passage d'une population $P_n$ à une population $P_{n+1}$ du système d'amélioration du matériel de base, ou dans la création de variétés ($V_n$) à partir de $P_n$, le sélectionneur dispose d'*opérateurs de transformation*, formés par la sélection et différents systèmes de manipulations des génotypes. En fait, il faut distinguer deux sortes d'opérateurs : *l'opérateur test* $\mathcal{T}$ ou l'opérateur lecture(*), qui permet la sélection des individus dans une génération $P_n$ et l'opérateur $\mathcal{M}$ *pour le passage* sans sélection à la génération suivante $P_{n+1}$ ou pour la création de variétés (fig. 4). Les mêmes systèmes de manipulation peuvent se trouver pour

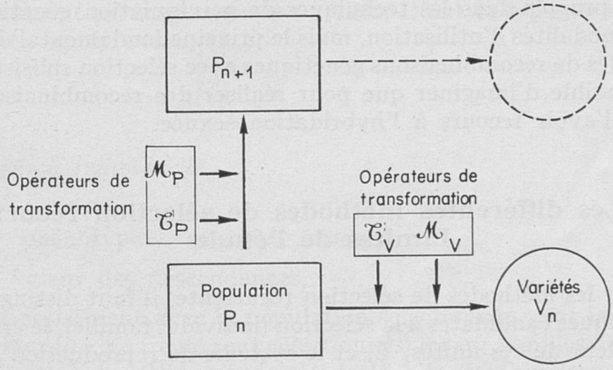



FIG. 4. — *Le principe de la création de variétés* ($V_n$) *à partir d'une génération* $P_n$ *d'amélioration du matériel de base est le même que celui pour passer de* $P_n$ *à* $P_{n+1}$, *mais la nature des opérateurs de transformation peut changer.* $\mathcal{T}_v$ *est l'ensemble des opérations permettant de sélectionner les parents des variétés et* $\mathcal{M}_v$ *est l'ensemble des systèmes de reproduction utilisés pour produire la variété.*

(*) Terme proposé par P. VINCOURT (communication personnelle).

l'amélioration des populations ou pour la création de variétés, et chaque opérateur $\mathcal{T}$ ou $\mathcal{M}$ peut être une combinaison de différents systèmes de manipulations. Parmi ces systèmes citons quelques exemples : la reproduction sexuée (croisement, panmixie, différentes formes de reproduction en consanguinité), l'haplo-diploïdisation c'est-à-dire l'haploïdisation suivie de diploïdisation (DEMARLY, 1975; FEYT, 1976), la multiplication asexuée (clonage, culture de tissus, apomixie provoquée...), augmentation du taux de recombinaison par des voies physiques ou chimiques...

L'opérateur test doit être adapté au but poursuivi. Dans le cas de création de variétés, pour des variétés hybrides, il pourra être représenté par des tests d'aptitude à la combinaison, alors que dans le cas des variétés synthétiques, l'aptitude générale à la synthèse (GALLAIS, 1975 *b*) sera mieux adaptée. De plus, les critères de test pourront être très variables et choisis de telle sorte qu'ils assurent le progrès maximum pour les caractères principaux sélectionnés. C'est à ce niveau qu'il serait possible d'introduire des tests au stade jeune, où même des tests sur les parents pour leur valeur en croisement sans réaliser les croisements (par exemple complémentation mitochondriale, critère de complémentation à partir d'une distance génétique mesurée par les isoenzymes) (ROUSSET, 1976), afin de réaliser un premier choix, avec une faible intensité de sélection.

Toute nouvelle technique de manipulation génétique ou d'appréciation de la valeur génétique sera à situer au niveau d'un cycle d'amélioration de la population ou d'un cycle de création variétale. La stratégie générale d'amélioration restera toujours la même : une amélioration continue du matériel de base, avec des possibilités de « sortie » par la création de « variétés », qui peuvent être considérées comme des structures fixées.

c) *Conclusion sur les avantages de la sélection récurrente.*

La sélection récurrente apparaît comme la façon la plus rationnelle d'améliorer un caractère quantitatif. Elle seule, par le jeu des recombinaisons résultant de l'intercroisement systématique après chaque cycle de sélection, peut permettre un progrès génétique important à long terme avec une sélection efficace sur plusieurs caractères. Des progrès dans les techniques de manipulation génétique pourront en modifier les modalités d'utilisation, mais le principe fondamental de cumulation de plusieurs cycles de recombinaisons génétiques avec sélection subsistera toujours. Il est même possible d'imaginer que pour réaliser des recombinaisons il ne soit pas nécessaire d'avoir recours à l'hybridation sexuée.

## II. — Les différentes méthodes de sélection récurrente Limites de l'étude

Pour classer les méthodes de sélection récurrente, il faut distinguer la nature des unités génétiques candidates à la sélection (individu, famille), le critère d'appréciation de la valeur de ces unités, $\mathcal{T}$, et le système de reproduction $\mathcal{M}$ des unités retenues pour passer à la génération suivante. (GALLAIS, 1973 *a*). Si l'on se tient aux termes, une méthode de sélection récurrente pourrait se définir comme une méthode dans laquelle le cycle d'ordre $n + 1$, serait immédiatement fonction du cycle $n$ (fig. 1). Toute sélection cumulant plusieurs cycles serait alors récurrente, quel que soit le système de reproduction $\mathcal{M}$. Cependant, l'usage du terme « récurrente », le réduit au cas où le système $\mathcal{M}$ est formé par une ou plusieurs générations

d'intercroisement à partir des unités sélectionnées. Pour l'amélioration du matériel de base, nous avons vu que $\mathcal{M}$ ne peut pas être d'une autre nature. Si $\mathcal{M}$ était un système de reproduction en consanguinité régulière, l'aboutissement serait la création de lignées homozygotes, ce qui dans notre schéma ne peut se placer qu'au niveau de la création de variétés. Mais cela n'exclut pas l'utilisation de la consanguinité plus ou moins poussée dans le système de test $\mathcal{T}$ pour l'amélioration du matériel de base. Dans la sélection généalogique classique, ces deux voies sont confondues en une seule, avec une utilisation non systématique, ni sur une base assez large, de l'intercroisement.

La sélection peut porter sur une seule population ou sur deux populations (sélection récurrente réciproque) ou même sur plus de deux populations (GALLAIS, 1975 *b*). Nous ne considèrerons dans cet article que les méthodes de sélection pouvant présenter un intérêt pour l'amélioration d'une seule population, pour sa valeur intrinsèque, pour la valeur des lignées qu'elle peut donner, leur valeur en elle-même et leur valeur moyenne en combinaison, c'est-à-dire leur Aptitude Générale à la Combinaison (A.G.C.). Les méthodes de sélection récurrente à deux populations seront envisagées dans un autre article.

Les unités sélectionnées peuvent être des individus, sans tenir compte de la famille (pleins frères ou demi-frères) à laquelle ils appartiennent; la sélection sera alors dite *individuelle*. Le critère (opérateur $\mathcal{T}$) d'appréciation de la valeur d'un individu peut alors être son phénotype, ou la valeur de ses descendants selon différents systèmes de reproduction (croisement, autofécondation). Mais il est possible de retenir en « bloc », tous les individus d'une famille : ce sont des familles qui sont intercroisées pour former la population sélectionnée (ou l'ensemble des familles lui-même peut former la population sélectionnée), la sélection est alors dite *familiale*. En théorie, ce type de sélection peut aussi être phénotypique ou sur descendance, bien que la sélection familiale sur descendance n'ait jamais été envisagée dans les études que nous connaissons. Les familles peuvent être des pleins frères issus de croisement ou d'autofécondation, ou demi-frères. Enfin la sélection peut être *combinée*, avec un index faisant intervenir les valeurs de différentes unités (individus, familles).

Nous récapitulons ci-dessous les principaux types de sélection récurrente intra-population qui seront envisagés dans cet article. D'autres types de sélection combinée peuvent bien sûr être trouvés.

1. — *Sélection individuelle.*

— sur le phénotype : sélection massale.

— sur la valeur des descendances,

. en croisement avec la population sélectionnée : sur familles de pleins frères (les 2 parents sont sélectionnés) ou sur familles de demi-frères = sélection pour l'Aptitude Générale à la Combinaison (A.G.C.) intra-population,

. en croisement avec un testeur constant,

. en autofécondation,

. sélection combinée sur les valeurs en croisement et en autofécondation.

2. — *Sélection familiale.*

— d'après la valeur phénotypique des familles obtenues en croisement intra-population,

. familles de pleins frères ou sélection combinée pleins frères ou demi-frères,

. familles de demi-frères,

— d'après la valeur des descendances des familles.

3. — *Sélection combinée individu + famille (s).*

— sur un index combinant la valeur du phénotype de l'individu et les valeurs phénotypiques des familles auxquelles il appartient,

— sur un index combinant la valeur de la descendance d'un individu et les moyennes des descendances de collatéraux (demi-frères ou pleins frères).

Les méthodes de sélection sur descendance avec familles de pleins frères et de sélection familiale de familles issues d'autofécondation ne sont citées là que pour mémoire. Chez les diploïdes en l'absence d'épistasie, la première méthode donne le même résultat que la sélection pleins frères, car c'est le même ensemble de gènes qui est retenu, et, pour la même raison la seconde donne le même résultat que la sélection sur descendance avec autofécondation. Mais, chez les autopolyploïdes, il n'en sera pas de même puisque dans ce cas, en plus des gènes sélectionnés, il faut tenir compte de leur association chez les individus qui se croisent pour former la génération suivante. La différence la plus nette sera entre la sélection individuelle selon la valeur en autofécondation et la sélection sur familles issues d'autofécondation : si les plantes autofécondées ne sont pas consanguines, dans le premier cas la population obtenue par croisement des individus sélectionnés sera non consanguine, alors que dans le second cas elle sera encore consanguine. (GALLAIS, 1975 *c*).

La sélection individuelle selon un index des valeurs en croisement (A.G.C.) et en autofécondation est particulièrement importante pour la sélection des constituants d'une variété synthétique. C'est une approche de l'aptitude générale à la synthèse (WRIGHT, 1973, 1974; GALLAIS, 1974 *e*, 1975 *b*). Mais c'est une méthode qui peut aussi être importante pour la sélection en vue de la création de lignées parentes d'hybrides simples, suffisamment vigoureuses et à bonne aptitude générale à la combinaison.

Dans le cas d'une *sélection généalogique* restreinte à la création de lignées à partir de matériel hétérozygote, la sélection est individuelle mais elle peut aussi porter sur le phénotype ou sur la valeur des descendances en autofécondation ou en croisement ou des combinaisons de ces valeurs. Ainsi pour une sélection sur descendance avec un testeur constant, on pourra parler de *sélection généalogique* pour l'*aptitude* à la *combinaison*, générale ou spécifique; s'il y a amélioration simultanée du testeur par sélection généalogique, il s'agit de la *sélection généalogique réciproque sur familles de pleins frères*, proposée par HALLAUER (1967). Ces schémas de sélection ne seront pas envisagés dans le cadre de cette mise au point limitée aux méthodes faisant systématiquement appel à l'intercroisement des unités sélectionnées, en vue de l'amélioration du matériel de base.

Rouvier (1969) a déjà établi les expressions du progrès génétique pour différentes méthodes de sélection récurrente intra-population adaptées aux animaux, avec sélection sur index. Dans cet article, nous voulons discuter davantage *a priori* les différents facteurs influençant le progrès génétique, en prenant en considération les particularités des végétaux (possibilités d'autofécondation, de multiplication végétative, d'haploïdisation) et la structure expérimentale pour la réalisation de la sélection. Nous nous limiterons ici à la sélection sur un seul caractère, la sélection par index se ramenant à ce cas, et nous n'envisagerons pas tous les types de sélection combinée. Les méthodes seront étudiées en elles-mêmes en vue d'une comparaison de leurs efficacités qui sera réalisée dans un autre article. Enfin, nous n'étudierons pas ici le progrès génétique au niveau des différents types de variétés.

## III. — Facteurs influençant le progrès génétique d'une méthode de sélection

### 1. — *Structure et durée d'un cycle de sélection*

Un cycle de sélection comprendra dans le cas le plus général, 3 phases :

— la production du matériel qui servira à l'appréciation de la valeur génétique, et,

— l'appréciation de la valeur génétique en elle-même, (opérateur $\mathcal{T}$),

— la recombinaison des unités sélectionnées pour produire la génération suivante. (opérateur $\mathcal{M}$).

Les deux premières phases constituent l'opérateur de test et la troisième l'opérateur $\mathcal{M}$ pour le passage à la génération suivante. Selon les méthodes, différentes phases pourront être confondues entre elles, l'exemple extrême étant celui de la sélection massale maternelle, où ces 3 phases sont confondues en une seule.

Pour comparer les méthodes, il faudra donc tenir compte de la durée du cycle de sélection, et des possibilités d'exécuter certaines phases en « dérobée », hors saison, en conditions artificielles, par exemple, pour la recombinaison des unités sélectionnées (c'est-à-dire pour les phases où l'on n'a pas à apprécier la valeur d'individus).

### 2. — *Expression générale du progrès génétique*

La valeur $\mu^*_{n+1}$ de la population obtenue après recombinaison des plantes sélectionnées dans la population résultant du cycle $n$ (fig. 3) peut être prévue par application du modèle linéaire (Gallais 1973 *a*, 1975 *c*) (fig. 5).

$$\mu^*_{n+1} = \mu_{n+1} + \theta \, S^* \operatorname{cov} G_n \mathcal{M}(G_n) / \operatorname{var} P^*_n \qquad (3)$$

$G^*$, $(P^*)$, est la valeur génétique (phénotypique), des unités candidates à la sélection selon l'opérateur $\mathcal{T}$ retenu.

$S^*$ est la sélection différentielle.

$\mathcal{M}(G)$ représente la valeur de la descendance selon le système $\mathcal{M}$ d'un génotype G particulier. Comme $\mathcal{M}$ est la panmixie, $\mathcal{M}(G)$ représente alors l'aptitude générale à la combinaison du génotype considéré. Par analogie nous aurions pu noter : $G^* = \mathcal{T}(G)$ et $P^* = \mathcal{T}(P)$.

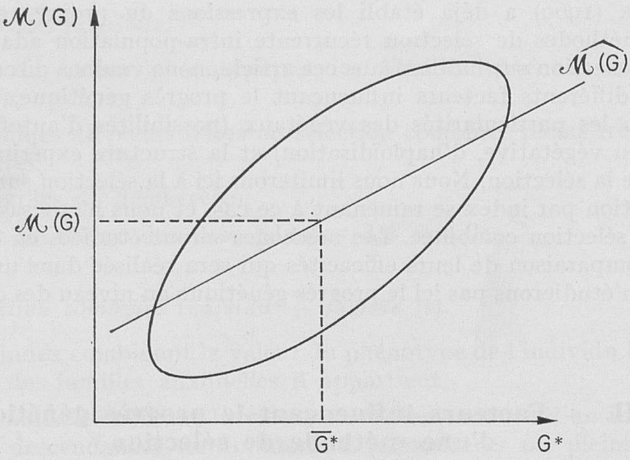



FIG. 5. — *Principe de prévision de la valeur de la descendance d'un génotype* G, *selon le système de reproduction* $\mathcal{M}$, *connaissant sa valeur* G* *selon le système de test* $\mathcal{T}$. *Le prédicteur linéaire* $\widehat{\mathcal{M}(G)}$, régression de $\mathcal{M}$(G) sur G*, *est le meilleur si le système* {$\mathcal{M}$(G), G*} *suit une loi bivariate normale.* (*Ce n'est que dans ce cas que l'ellipse de liaison à un sens*).

cov $G^*\mathcal{M}(G)$ représente la covariance entre la valeur des unités sélectionnées avec un système de test donné et la valeur attendue de leur descendance en panmixie. var P* est la variance des valeurs phénotypiques, selon le système de test, des unités candidates à la sélection.

$\mu^*$, ($\mu$), représente la moyenne de la population après reproduction des unités sélectionnées (après reproduction sans sélection pour $\mu$).

$\theta = 1$ ou 2 selon que le contrôle de la sélection porte sur un sexe (pollen ou ovule) ou les 2 sexes.

Une prévision non linéaire pourrait être utilisée. La prévision linéaire a été retenue car elle est la plus simple et s'est révélée pratiquement assez efficace.

D'après (3) on peut écrire l'espérance du progrès génétique $\Delta G$ en un cycle de sélection :

$$\Delta G = \mu^*_{n+1} - \mu^*_n = (\mu_{n+1} - \mu^*_n) + i\,\theta \operatorname{cov} G^*_n\, \mathcal{M}(G_n) / \sqrt{\operatorname{var} P^*_n} \quad (4)$$

où $i$ est l'intensité de la sélection en unités standard :

$$i = S^* / \sqrt{\operatorname{var}\ P^*_n}$$

Pour avoir le progrès par unité de temps ou par phase, il faudrait diviser par la longueur d'un cycle, ou par le nombre de phases.

L'expression du progrès génétique montre qu'il y a deux effets à prendre en considération, l'*effet moyen du système de reproduction* sans sélection $(\mu_{n+1} - \mu^*_n)$ et l'*effet de la sélection*. La contribution de la génétique quantitative appliquée à l'amélioration des plantes peut donc porter à ces deux niveaux : il faut connaître l'effet des systèmes de reproduction sur la moyenne, les variances et les covariances entre apparentés.

Chez les diploïdes, en l'absence d'épistasie, et avec $\mathcal{M}$ = panmixie, $\mu_{n+1} = \mu^*_n$ et l'équation (4) permet de retrouver des résultats classiques (SPRAGUE 1966, EBERHART 1970, RUSSEL 1973 *b*). Chez les autopolyploïdes, compte tenu de l'impor-

tance de l'arrangement des gènes chez les individus qui se reproduisent pour former la génération suivante, même avec des parents non consanguins, nous aurons en général $\mu_{n+1} \neq \mu_n^*$. Il en sera aussi de même chez les diploïdes avec épistasie, puisque la génération formée sera en déséquilibre de linkage. Cependant, dans le cas d'un caractère déterminé par un grand nombre de loci à effet faible chacun (GRIFFING, 1960), on peut penser que le biais pour les deux situations considérées sera faible au cours d'un premier cycle de sélection.

A chaque cycle de sélection, la formule (4) peut être appliquée. Nous ne chercherons pas à exprimer la valeur de la population du $n^e$ cycle de sélection en fonction de paramètres génétiques de la population de départ car le problème est complexe et encore mal résolu. Il n'y a pas association au hasard des gènes et, du fait de la sélection, la variance génétique peut diminuer. Ce problème pourrait être approché par la simulation. Nous étudierons donc l'efficacité des méthodes de sélection sur la base de l'espérance du progrès qu'elles entraînent au cours du premier cycle de sélection, en partant d'une population supposée en équilibre panmictique. Pour être plus complet, à cette espérance, il faudrait associer une variance. Mais l'expression de la variance d'un progrès génétique est complexe à exprimer; aussi, ce problème, bien que très important ne sera pas envisagé ici.

Nous discuterons dans ce qui suit les paramètres de l'effet de la sélection : l'intensité de la sélection $i$, le degré de contrôle de la sélection $\theta$, et l'héritabilité généralisée cov $G^* \mathcal{M}(G)$ /var $P^*$. Pour avoir le progrès maximum, il faudrait bien sûr avoir tous ces paramètres à leur valeur maximum. Cependant $i$ et $\theta$ seront souvent fixés par des contraintes et le sélectionneur pourra surtout agir sur cov $G^* \mathcal{M}(G)$ /var $P^*$ en augmentant le numérateur, par une action sur le système de test $\mathcal{T}$, mais aussi en diminuant le dénominateur par une action sur les dispositifs de tests.

*Remarque :* Pour envisager les progrès au niveau de la création d'un type de variétés $V_n$, à partir de la génération $P_n$, (fig. 4) on peut écrire une équation analogue à l'équation (3) :

$$E(V_n^*) = E(V_n) + S^* \text{ cov } G_n^* \mathcal{M}_v(G_n) / \text{var } P_n^* \quad (5)$$

$E(V_n^*)$ et $E(V_n)$ représentent respectivement la valeur attendue des variétés V, avec et sans sélection;

$G^*$ et $P^*$ représentent respectivement la valeur génétique et la valeur phénotypique des parents de la variété, selon le système de test $\mathcal{T}_v$; $\mathcal{M}_v$ est le système de croisement utilisé pour produire la variété; $\mathcal{M}_v(G_n) = V_n$ valeur d'une variété obtenue avec les parents sélectionnés dans $P_n$. Il est évident que $\mathcal{T}_v$ *doit-être adapté au type de variété*. Ce problème important pour la théorie de la création de variétés ne sera pas envisagé dans le cadre de cette étude sur l'amélioration des populations.

### 3. — *Structure de la variance phénotypique et interaction génotype × milieu*

La variance phénotypique dépendra du degré de contrôle de l'erreur expérimentale et de l'interaction génotype × milieu. Ainsi d'une façon générale :

$$\text{var } P^* = \sigma^2_{P^*} = \sigma^2_{G^*} + \frac{1}{l} \sigma^2_{G^*L} + \frac{1}{bl} \sigma^2_e$$

ou $\sigma^2_{G*L}$ est la variance d'interaction entre les unités servant à apprécier la valeur génétique et le milieu (lieu) ; $l$ est le nombre de lieux, et $b$ le nombre de répétitions par lieu. Il serait aussi possible d'introduire une interaction génotype × année.

Dans les schémas de sélection individuelle, il faut faire l'hypothèse d'*indépendance phénotypique* entre les individus, c'est-à-dire d'*absence de compétition*. C'est une hypothèse très restrictive pour certaines espèces (plantes fourragères par exemple) qui mériterait d'être levée par de nouveaux développements théoriques (GRIFFING, 1967, 1976; GALLAIS, 1976 *c*). Elle est aussi supposée dans la théorie des autres méthodes (sélection familiale), mais dans ce cas, on conçoit que sa non-satisfaction puisse avoir des effets moins graves, certains effets d'interaction entre génotypes étant déjà intégrés dans la valeur de la famille (GALLAIS, 1975 *a*). Supposant alors l'absence de compétition, l'erreur expérimentale $\sigma^2_e$ peut se décomposer en deux parties (COCKERHAM, 1963) :

$$\sigma^2_e = \frac{1}{n}\,\sigma^2_w + \sigma^2_p$$

$n$ représente le nombre d'individus par parcelle, $\sigma^2_p$ est la variance de l'effet parcelle et $\sigma^2_w$ est la variance génétique intraparcellaire (variance génétique totale—covariance génétique entre individus d'une même parcelle) plus une variance environnementale spécifique à chaque plante d'une même parcelle $\sigma^2$.

La structure expérimentale envisagée, avec plusieurs lieux et plusieurs répétitions par lieu, peut s'appliquer facilement aux schémas de sélection familiale ou de sélection sur descendance. Elle peut être aussi envisagée pour la sélection individuelle phénotypique (sélection massale), lorsque la multiplication végétative est possible.

Une *structure expérimentale optimum* sera à déterminer compte tenu des différentes composantes de la variation. Ce problème ne sera pas abordé ici. Nous envisagerons cependant les conséquences de l'existence d'interactions génotype × milieu. Par sélection sur la performance moyenne dans plusieurs lieux, le progrès génétique serait tel que :

$$\mu^* - \mu = i \operatorname{cov} G^* \mathcal{M}(G) \Big/ \sqrt{\operatorname{var} G^* + \frac{1}{l}\operatorname{var} G^*L + \frac{1}{bl}\,\sigma^2_e}$$

Par sélection dans un seul lieu ($l = 1$), le progrès sur l'ensemble des lieux serait tel que :

$$\mu^* - \mu = i \operatorname{cov} G^* \mathcal{M}(G) \Big/ \sqrt{\operatorname{var} G^* + \operatorname{var} G^*L + \frac{1}{b}\,\sigma^2_e}$$

ce qui est bien sûr inférieur au progrès précédent dès que l'interaction est assez élevée. Cependant, le progrès réalisé dans le lieu de sélection sera tel que

$$\mu^* - \mu = i[\operatorname{cov} G^* \mathcal{M}(G) + \operatorname{cov} G^*L\, \mathcal{M}(G^*L)] \Big/ \sqrt{\operatorname{var} G^* + \operatorname{var} G^*L + \frac{1}{b}\,\sigma^2_e} \qquad (6)$$

cov $(G^*L)$ $\mathcal{M}(G^*L)$ représentant la part de covariance due à l'interaction génotype × lieu. Cette quantité étant attendue positive, le progrès dans le lieu de sélection sera supérieur au progrès sur l'ensemble des lieux d'utilisation des résultats de la sélection. Ce résultat assez évident, déjà discuté par COMSTOCK (1963) devrait avoir des conséquences sur la stratégie de la sélection.

Si l'interaction génotype × milieu est telle que les classements des valeurs génotypiques dans les différents milieux ne sont pas modifiés, alors, il est possible de ne sélectionner que dans un milieu, le meilleur étant celui qui augmentera la variance entre génotypes. Par contre, si les classements sont fortement perturbés, l'efficacité de la sélection pour une *adaptation générale* va dépendre de l'échantillon des lieux, et des conditions de l'année. L'augmentation du nombre des milieux va être très coûteuse. Cependant si, comme de nombreux auteurs après FINLAY et WILKINSON (1963) et BREESE (1969) l'ont vérifié, on admet une réaction linéaire des génotypes au milieu (c'est-à-dire une régression linéaire entre la valeur d'un génotype dans les différents milieux et la moyenne de tous les génotypes dans chaque milieu), alors, l'étude de la performance des génotypes (familles, lignées...) dans quelques milieux pourrait permettre de prévoir leur comportement dans d'autres milieux. Une telle approche pourrait aussi permettre d'éliminer des biais dans la sélection dus à un effet année, introduisant des interactions génotypes × année.

La stratégie même de la sélection pour une adaptation générale peut être remise en cause. Le fait de ne retenir que les génotypes se comportant bien en moyenne dans les différents milieux peut conduire à confondre une relative stabilité et une très forte instabilité. Cependant il est possible d'introduire le *critère de stabilité* mais alors l'intensité de sélection risque d'être trop forte, et l'élimination des génotypes instables se traduira par une perte de variabilité. On peut se demander s'il ne vaudrait pas mieux effectuer de façon indépendante la sélection dans différents milieux, intercroiser l'ensemble des génotypes sélectionnés pour former une nouvelle population soumise à nouveau à la sélection dans les différents milieux (ARBEZ, 1976; KRAMER, 1976). LONNQUIST (1976) a proposé une variante de ce schéma adapté pour la sélection massale chez le Maïs : à chaque génération, dans chaque milieu, la population sur laquelle porte la sélection est formée par le mélange des sélections de la génération précédente des autres milieux.

Si les interactions génotype × milieu sont très fortes, il sera sans doute plus efficace d'envisager la sélection pour une *adaptation spécifique*. Des groupes de milieux assez homogènes pourront être réalisés, et à l'intérieur de chaque groupe il faudra choisir l'une des stratégies précédemment envisagées pour l'adaptation générale, en « optimisant » l'utilisation des moyens. D'une façon plus générale, la recherche de l'optimisation de la structure expérimentale de sélection reste encore une contribution importante que la biométrie doit apporter à la théorie de la sélection.

### 4. — *L'intensité de la sélection*

Le progrès peut évidemment être augmenté par l'augmentation de l'intensité de la sélection. Les tables de FISHER de la loi normale permettent d'avoir $i$ connaissant la proportion $p$ d'individus retenus, par exemple avec :

$p =$ 0,1 p. cent $i = 3{,}37$

$p =$ 1 p. cent $i = 2{,}66$

$p =$ 10 p. cent $i = 1{,}75$

Cependant, dans le cas de test de descendances en plantes isolées, comme la place est toujours limitée, il n'est pas possible de tester un grand nombre de familles: il faut donc trouver le compromis entre le nombre de familles à tester, le nombre d'individus par famille et le nombre de répétitions. C'est là un problème important à résoudre pour avoir l'efficacité « économique » maximale avec le progrès génétique

maximal, compte tenu des moyens en jeu. C'est toujours le problème de l'optimisation des moyens à la disposition du sélectionneur.

En moyenne pour la sélection sur descendance et la sélection familiale, l'intensité de la sélection sera beaucoup plus faible qu'avec la sélection massale (individuelle). La comparaison des méthodes devra donc être faite, non pas à intensité égale, mais par exemple à surface égale, et plus généralement à moyens égaux.

### 5. — *Plans d'intercroisement et développement de la consanguinité au cours des cycles successifs*

Dans toutes les méthodes envisagées, l'expression du progrès génétique suppose que les individus sont tirés d'une population illimitée et que le nombre d'individus ou familles retenus est lui-même grand. Dans la pratique, ce nombre sera limité et il en résultera une consanguinité de la population. Dans le cas de sélection individuelle, et sans tenir compte d'une structure familiale possible, la vitesse de développement de la consanguinité chez les diploïdes peut se prévoir selon la formule de MALECOT (1948) si le nombre d'individus (N) retenus est constant à chaque cycle :

$$1 - F_n \# (1 - 1/2N)^n$$

$F_n$ étant le cœfficient de consanguinité au $n^e$ cycle de sélection. (L'égalité est stricte si l'on admet l'autofécondation). Le tableau n° 1 montre quelques valeurs de $F_n$ en fonction de N et de $n$.

TABLEAU 1

*Consanguinité attendue dans une population d'effectif limité N, après n cycles de panmixie. Il s'agit d'une espérance avec une variance d'autant plus grande que l'effectif est faible.*

| N / $n$ | 10 | 20 | 30 | 40 |
|---|---|---|---|---|
| 1. . . | 0,0500 | 0,0250 | 0,0167 | 0,0125 |
| 2. . . | 0,0975 | 0,0494 | 0,0331 | 0,0248 |
| 3. . . | 0,1426 | 0,0731 | 0,0493 | 0,0370 |
| 4. . . | 0,1855 | 0,0963 | 0,0651 | 0,0491 |

Cette consanguinité risque d'affecter le progrès génétique si la restriction de la base génétique est trop forte par rapport à l'évolution de la « résistance » à la consanguinité. En effet, au fur et à mesure des cycles de sélection, les individus doivent devenir de moins en moins sensibles à la consanguinité, par exemple par l'accumulation au maximum de loci d'allèles dominants favorables à l'état homozygote. Il y a encore là un domaine assez inexploré de la génétique quantitative appliquée à l'amélioration des plantes. Cependant, différents résultats expérimentaux de sélection sur descendances (EBERHART, 1970) montrent qu'en retenant de 20 à 40 individus pour initier le cycle suivant, il y a assez bon accord entre le progrès génétique attendu et le progrès réalisé au bout de plusieurs cycles de sélection. Dans la mesure où la consanguinité se développe lentement, elle n'est pas défavorable, elle n'empêche pas les recombinaisons entre gènes favorables

(cf. Travaux de HANSON, FISHER et BENNETT déjà cités) et assure même en partie leur fixation. Pour cela, si possible, il sera bon de contrôler et de minimiser les parentés dans le matériel sélectionné.

Le risque de développement de la consanguinité varie selon les méthodes utilisées. Ainsi dans le cas où la réalisation du plan de croisement pour l'appréciation de la valeur génétique de matériel (opérateur $\mathcal{C}$) est confondue avec le passage à la génération suivante (opérateur $\mathcal{M}$), il y a une forte influence du plan de croisement. Les plans de croisement factoriel ou diallèle développent rapidement des relations de parenté, sauf s'il en est réalisé un assez grand nombre de petite taille. Par contre, le plan hiérarchique avec 3 ou 4 croisements avec la même plante, présente moins de risque. A la limite, le croisement par paires indépendantes (single pair mating) permettra un très bon contrôle des parentés. Les plans étudiés par KIMURA (1963) et COCKERHAM (1970) peuvent aussi être utilisés, bien qu'ils imposent des contraintes assez fortes. Mais, l'inconvénient de ces plans pour minimiser les croisements entre apparentés est qu'ils ne permettent pas une bonne appréciation de la valeur génétique. Pour remédier à cet inconvénient, ARBEZ (1976) a alors proposé de retenir un plan efficace pour minimiser les parentés des plantes croisées, le croisement par paires, par exemple, et de réaliser en même temps sur chacune des plantes un polycross permettant d'évaluer leur valeur génétique.

Dans le cas d'une sélection sur descendance, du fait de la séparation des opérateurs $\mathcal{C}$ et $\mathcal{M}$, le problème ne se pose pas de la même façon. Pour réaliser $\mathcal{M}$, la meilleure technique serait un croisement diallèle mais celui-ci n'étant en général pas possible compte tenu du nombre élevé de parents (20 à 40), il faudra avoir recours à d'autres techniques. Des diallèles partiels pourront aussi être utilisés; cependant le plan polycross sera souvent le plus facile à réaliser. Quel que soit le plan retenu, il sera important de conserver la structure familiale (famille de pleins frères et de demi-frères), afin de minimiser la consanguinité, tant au niveau des plans de croisement de l'opérateur $\mathcal{C}$, qu'au niveau de la population résultant de l'intercroisement des plantes sélectionnées. Une telle structure familiale permettra de s'imposer des contraintes du type de celles des plans étudiés par KIMURA. Dans le cas d'une recombinaison par polycross, on pourra, par exemple, s'imposer de retenir systématiquement une plante pour chaque descendance, c'est-à-dire réaliser une sélection sur descendance intra-familiale.

D'autres solutions applicables aux deux types de sélection sont possibles. Il est possible de stratifier *a priori* la population en groupes distincts et aléatoires et de n'effectuer les croisements pour passer d'une génération à la suivante qu'entre individus appartenant à des groupes différents (ARBEZ, 1976). Mais ceci n'est réalisable qu'en partant d'une population de base suffisamment large pour permettre des groupes indépendants pendant plusieurs générations de sélection. Une ou deux générations de reproduction en panmixie, sans sélection, diminuerait aussi les risques de croisement entre apparentés trop proches, et augmenterait en même temps les possibilités de recombinaison. Une autre façon de limiter la dérive et les inconvénients d'un développement trop rapide de la consanguinité serait d'avoir au moins une répétition de la méthode utilisée sur le même matériel et d'intercroiser ces répétitions lorsque le progrès génétique se ralentirait.

### 6. — *Évolution de la variabilité au cours de la sélection*

Au cours de la sélection, il semble logique de considérer que la variabilité doive diminuer. Avec les hypothèses d'un grand nombre de loci en cause, de faible effet chacun, négligeable par rapport à la variance phénotypique totale, la réponse

à la sélection au bout du $n^e$ cycle peut être prévue par des paramètres définis au niveau de la population de départ (GRIFFING, 1960; GALLAIS, 1975 *a*). En l'absence d'épistasie, cela revient même à considérer que la variance additive est constante au cours des cycles. Cependant cette approche ne tient pas compte du fait que la population sélectionnée résulte de la recombinaison d'un nombre limité de plantes et l'hypothèse d'absence de gènes à effets majeurs peut sembler contraignante. Il reste qu'une faible héritabilité est une sorte de protection de la variance.

L'estimation de la variance au cours de différents cycles d'expériences de

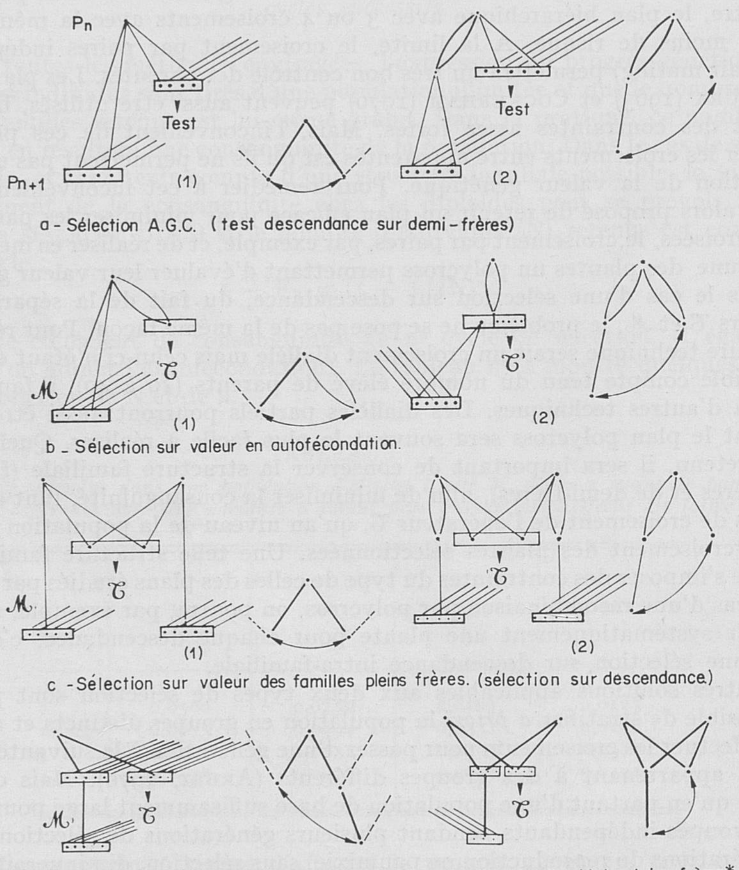



FIG. 6. — *Relations entre apparentés pour quelques méthodes de sélection.*

Schémas a, b, c.

(1) : avec pérennité des parents.

(2) : avec autofécondation des parents lorsque les individus testés ne servent pas au passage à la génération suivante.

Nous avons schématisé pour chaque méthode de sélection à droite, les opérations de test (𝒯) et de passage à la génération suivante (ℳ) et à gauche le graphe de la parenté relative à la covariance entre la valeur des unités sélectionnées selon 𝒯, et la valeur de leur descendance selon ℳ. Un individu, la transmission de ses gamètes par croisement avec un individu non apparenté et son autofécondation sont représentés respectivement par un point, un trait et une boucle, les points supérieurs représentant les individus ancêtres.

sélection montre que, au moins à court terme (4 à 6 cycles de sélection, ce qui est déjà beaucoup), la variabilité tend à se conserver ou peut même augmenter avant de diminuer (WEBEL, 1967; PATERNIANI, 1967; HALLAUER, 1970; PENNY, 1971; EBERHART *et al.*, 1973; RUSSEL *et al.*, 1973; LONNQUIST, 1976). D'autres résultats expérimentaux (MOLL, 1967; 1971; GARDNER, 1963) montrent bien une réponse linéaire avec les cycles de sélection et un accord assez bon entre le progrès attendu et le progrès observé. Une faible héritabilité est-elle suffisante pour expliquer cela? Il est possible aussi qu'une variabilité « cachée » soit libérée au cours des cycles de recombinaison. Dans le cas de biallélisme, il est aussi possible de montrer (NEI, 1963) qu'avec des fréquences faibles de gènes favorables au départ, la variance utilisable peut augmenter au cours des premiers cycles de sélection avant de diminuer.

La conséquence de ces études théoriques et expérimentales est que sur quelques cycles de sélection, (4 à 6) il apparaît possible de prévoir la réponse à la sélection en fonction de paramètres de la population de départ. Cela facilitera aussi les comparaisons entre méthodes qui pourront être faites au niveau des progrès génétiques par unité de temps.

## IV. — Étude du progrès propre à chaque méthode sans consanguinité des parents

L'expression générale du progrès génétique (3) permet d'aborder n'importe quelle situation : il suffit de pouvoir exprimer la covariance cov $G^*\mathcal{M}(G)$ et la variance phénotypique var $P^*$ en fonction des paramètres propres à la situation considérée. La fig. 6 illustre les relations de parenté relatives aux covariances cov $G^*\mathcal{M}(G)$ pour quelques méthodes de sélection. Ces covariances peuvent s'exprimer en fonction de paramètres génétiques relatifs à la population sélectionnée Les travaux de COCKERHAM (1954, 1956), KEMPTHORNE (1954, 1957), SCHNELL (1963), GILLOIS (1964), HARRIS (1964), BOUFFETTE (1967), GALLAIS (1970, 1974 *a-b*, 1976 *c*) permettent cela selon le niveau de ploïdie considéré, le déséquilibre panmictique, le déséquilibre de linkage, les effets de gènes, et la compétition. Pour simplifier la présentation des résultats pour les principales méthodes, nous ne considérons surtout que le cas des espèces diploïdes, avec absence d'épistasie (tabl. 2). Cette dernière hypothèse n'est d'ailleurs pas aussi restrictive qu'il peut sembler. En effet, les effets des gènes étant définis de façon statistique, cela n'exclut pas une épistasie de type « structurale », s'exprimant au niveau de la moyenne; de plus, une part de la variation d'épistasie statistique sera recouverte par les paramètres retenus.

### 1. — *Sélection massale*

Dans le cas de la sélection massale, la contribution au progrès génétique de l'apport d'un sexe dépend de la covariance parent-enfant :

$$\text{cov } G^*\mathcal{M}(G) = \text{cov PO} = 1/2\ \sigma^2_A \quad (\sigma^2_A = \text{variance d'additivité})$$

Si les apports polliniques ne sont pas contrôlés, les plantes femelles retenues sont pollinisées par l'ensemble de la population : dans ce cas la sélection massale n'est qu'une sélection maternelle. Par contre, si la sélection peut se faire avant pollinisation (cas où l'on ne s'intéresse qu'à la production végétative, cas des plantes fourragères, de certaines plantes potagères par exemple), le progrès géné-

TABLEAU 2

*Progrès attendu par cycle avec quelques méthodes de sélection récurrente intrapopulation chez les diploïdes (sans consanguinité des parents).*

$\sigma^2_A$ = variance d'additivité, $\sigma^2_G$ = variance génétique totale dans la population panmictique; cov HS, cov FS, respectivement covariance entre demi-frères et entre pleins frères dans la population panmictique, $\sigma^2_p$ = variance de l'effet milieu commun aux individus d'une parcelle, $\sigma^2$ = variance de l'effet milieu spécifique à chaque individu d'une parcelle, $b$ = nombre de blocs, $n$ = nombre d'individus par parcelle.

| Méthodes | Progrès attendu (2) | % variance additive utilisée (5) | Nombre de phases par cycle |
|---|---|---|---|
| 1. Sélection individuelle (1) | | | |
| Massale . . . . . . . . . . . . . . . . | $i \dfrac{\sigma^2_A}{\sqrt{\sigma^2_G + \sigma^2_e}}$ | 100 | 1 |
| Aptitude Générale à la Combinaison . . . | $i \dfrac{1/2\ \sigma^2_A}{\sqrt{\text{cov HS} + \dfrac{1}{b}\sigma^2_p + \dfrac{\sigma^2_G - \text{cov HS} + \sigma^2}{nb}}}$ | 50 | 3 |
| Valeur en autofécondation . . . . . . | $i \dfrac{\sigma^2_A + 1/4\ \sigma_{AD}}{\sqrt{\sigma^2_a + \dfrac{1}{b}\sigma^2_p + \dfrac{\sigma^2_{G'} - \sigma^2_a + \sigma^2}{nb}}}$ (3) | 100 | 3 |
| 2. Sélection familiale | | | |
| Demi-frères (sélection maternelle) . . . | $i \dfrac{1/8\ \sigma^2_A}{\sqrt{\text{cov HS} + \dfrac{1}{b}\sigma^2_p + \dfrac{\sigma^2_G - \text{cov HS} + \sigma^2}{nb}}}$ (4) | 12,5 (25) | 1 ou 2 si (4) |
| Pleins frères . . . . . . . . . . . . . | $i \dfrac{1/2\ \sigma^2_A}{\sqrt{\text{cov FS} + \dfrac{1}{b}\sigma^2_p + \dfrac{\sigma^2_G - \text{cov FS} + \sigma^2}{nb}}}$ | 50 | 2 |

(1) Avec contrôle paternel et maternel de la sélection.
(2) L'intensité de la sélection $i$ est propre à chaque méthode.
(3) $\sigma^2_{G'}$ = variance génétique totale des $I_1$, $\sigma^2_a$ = variance entre $I_1$, $\sigma_{AD}$ = covariance additivité-dominance.
(4) Avec contrôle maternel et paternel de la sélection, le progrès est à multiplier par 2.
(5) Par sélection entre individus ou entre familles.

tique sera multiplié par deux. Cette situation peut aussi être réalisée dans le cas de plantes à grains si l'autofécondation peut être réalisée en même temps que la fécondation libre, ou si la multiplication végétative est possible. Cependant cela introduit une phase de plus correspondant au recroisement des plantes ou lignées retenues; mais elle pourrait se faire hors saison. Dans le cas d'autopolyploïdie, l'utilisation de l'autofécondation pour le maintien du matériel perturbera légèrement le progrès génétique puisque le croisement de plantes autofécondées ($F = 0,1667$) ne supprime pas totalement la consanguinité qui reste avec un $F = 0,0555$.

L'efficacité de la sélection massale peut d'ailleurs être accrue par un meilleur contrôle de l'effet de l'hétérogénéité du terrain. (voir la mise au point de LE COCHEC, 1974). GARDNER (1961) a proposé de diviser le champ de sélection en parcelles d'un nombre limité d'individus (entre 50 et 100 par exemple) et de sélectionner un nombre constant d'individus par parcelle. L'efficacité d'une telle méthode a été vérifiée par VERHALEN (1975) sur Cotonnier.

### 2. — *Sélection individuelle sur valeur des descendances*

Tout schéma de sélection sur descendance demandera 3 phases :

— production des familles,
— test des familles,
— recombinaison des plantes sélectionnées, ou de leur autofécondation (cette phase pourra se faire hors saison pour des espèces annuelles).

De tels schémas ne peuvent donc s'appliquer que si la conservation des parents des familles est possible, soit par multiplication végétative, soit par autofécondation (réalisée en même temps que le croisement s'il y a croisement). Dans le cas de plantes monoïques, la sélection est à la fois paternelle et maternelle et donc $\theta = 2$, alors que dans le cas de plantes dioïques, la sélection peut ne porter que sur un sexe ($\theta = 1$).

a) *Sélection pour l'A.G.C. intrapopulation*

Le critère de sélection est l'A.G.C. d'une plante mesurée par rapport à la population en cours d'amélioration. Selon le contrôle de la pollinisation, deux structures familiales sont possibles. Si le contrôle est total, une plante donnée (♂ ou ♀) est croisée avec un échantillon défini de taille limitée, de plantes de la même population (♀ ou ♂). Cela conduit à une structure hiérarchique, très utilisée en sélection animale; c'est le schéma 1 de COMSTOCK et ROBINSON (1952). Ainsi l'A.G.C. d'une plante sera appréciée par la moyenne des familles de pleins frères ayant un parent commun. Pour un tel schéma, la variance phénotypique a pour expression :

$$\text{cov HS} + \frac{1}{f}(\text{cov FS} - \text{cov HS}) + \frac{1}{bf}\left[\sigma_p^2 + \frac{\sigma_G^2 - \text{cov FS} + \sigma^2}{n}\right]$$

cov HS (cov FS) étant la covariance entre individus demi-frères (pleins frères), $\sigma_G^2$ la variance génétique totale, et $f$ le nombre de plantes supposé constant (mais ce n'est pas nécessaire), croisé à une même plante ($f > 1$). Si $f = 1$, c'est le cas de sélection sur descendance avec croisements biparentaux, qui revient au schéma de sélection de familles de pleins frères.

Si l'échantillon de plantes qui pollinise une même plante n'est pas défini (cas de fécondation libre), on peut supposer que cet échantillon représente la population et que la probabilité d'avoir des individus pleins frères est faible par rapport à la probabilité d'avoir des individus demi-frères; à l'extrême, supposons qu'elle soit nulle, alors nous sommes en présence de familles de demi-frères, dont la variance phénotypique sera :

$$\text{cov HS} + \frac{1}{b}\left[\sigma_p^2 + \frac{\sigma_G^2 - \text{cov HS} + \sigma^2}{n}\right]$$

Bien que la structure expérimentale soit différente dans les 2 situations la covariance cov G* $\mathcal{M}$G sera la même :

$$\text{cov G}^* \mathcal{M}\text{G} = \text{cov HS} = \sigma_g^2 \ (= 1/4\ \sigma_A^2)\ (\sigma_g^2 = \text{variance d'A.G.C.})$$

La fig. 7 donne un exemple de schéma de sélection récurrente sur l'A.G.C. et la valeur en autofécondation, utilisé à la Station de Lusignan sur Dactyle. Cette sélection fait aussi intervenir la valeur phénotypique des plantes mères et la valeur de la famille de demi-frères à laquelle elles appartiennent.

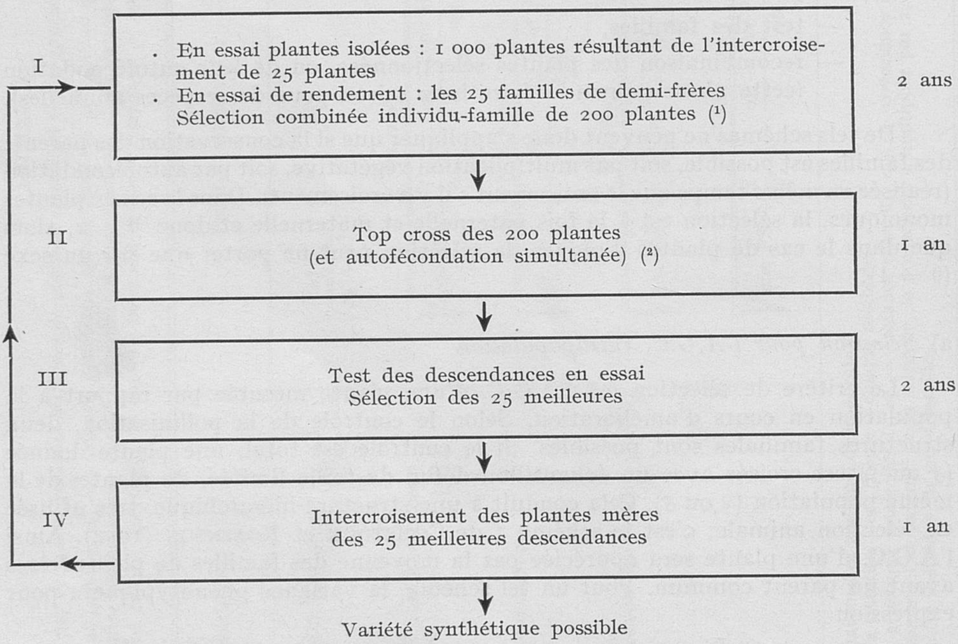



FIG. 7. — *Exemple d'un schéma de sélection récurrente sur descendance utilisé sur une graminée pérenne, le Dactyle, à la Station d'Amélioration des Plantes fourragères de Lusignan. Il y a 4 phases, mais les phases I et II pourraient être confondues en une seule en réalisant le top cross au niveau de la pépinière de plantes isolées.*

(1) Ce schéma comprend en fait deux niveaux de choix avec une sélection phénotypique avant le test des descendances.

(2) L'autofécondation est réalisée pour permettre une appréciation de l'aptitude générale à la synthèse. Les plantes mères sont maintenues par multiplication végétative.

b) *Sélection avec un testeur constant* (top-cross)

Dans le principe, cette méthode est comparable à la précédente lorsque celle-ci ne porte que sur des familles de demi-frères. Le schéma montre que le progrès génétique dans la population améliorée dépendra de la covariance entre l'aptitude à la combinaison d'une plante par rapport au testeur et son A.G.C. intra-population. C'est une covariance entre demi-frères mais qui est différente de celle introduite précédemment puisque le testeur est différent de la population améliorée. D'après une notation introduite par GRIFFING (1962), elle sera notée $\mathrm{cov}_{aa \cdot at}$ HS, *aa* représentant le test d'A.G.C. intra-population et *at* le test d'aptitude à la combinaison avec le testeur. Le progrès attendu est alors :

$$i\,\theta\,\frac{\mathrm{cov}_{aa\cdot at}\ \mathrm{HS}}{\sqrt{\mathrm{var}_{at}\ \mathrm{HS}}}$$

$\mathrm{var}_{at}$ HS représentant la variance phénotypique des familles obtenues par top-cross avec le testeur.

Il faut remarquer que ce progrès n'est pas nécessairement positif. Dans le cas de biallélisme, et pour un locus :

$$\mathrm{cov}_{aa\cdot at}\mathrm{HS} = 1/4\, p_a q_a [d - (p_a - q_a)h][d - (p_t - q_t)h] \qquad (7)$$

avec $d$, $h$, de la notation de MATHER (1949) et $p_a = 1 - q_a$, $p_t = 1 - q_t$, fréquence de l'allèle dominant respectivement dans la population améliorée et dans la population testeur. Dans le cas général où $p_t \neq 1$, le progrès sera positif en l'absence de superdominance et conduira à la fixation de l'allèle favorable. Avec superdominance, le signe dépend des fréquences dans la population et chez le testeur. Si $p_a$ et $p_t$ sont de part et d'autre de la valeur critique $p_e = \frac{1 + h/d}{2h/d}$, la population perdra de vigueur. Au contraire, si $p_a, p_t \lesseqgtr p_e$, la population augmentera de vigueur au cours des cycles de sélection. Une réponse positive ne sera donc pas une preuve suffisante de dominance partielle à complète.

Une telle méthode conduit surtout à développer l'aptitude à la combinaison de la population avec le testeur, et elle sera particulièrement adaptée pour la création d'hybrides où entrera le testeur. Mais ce problème sort des limites fixées à cette étude où nous considérons seulement l'amélioration intrapopulation. Pour une telle situation on peut se demander quel type de testeur il faut choisir. Pour illustrer le problème, nous raisonnerons encore dans le cas de biallélisme, en supposant la dominance favorable. L'expression (7) montre que le progrès dû à un locus dépend de la quantité $\alpha_t = d - (p_t - q_t)h$. Le progrès sera donc le plus fort avec $p_t = 0$, (testeur homozygote récessif), quel que soit le type de dominance, mais d'autant plus que celle-ci sera forte (cas de superdominance). Si $p_t = q_t = 1/2$, le progrès sera indépendant du type de dominance et toujours inférieur à celui où $p_t = 0$. Si $p_t = 1$, le progrès sera positif pour $0 < h/d < 1$ (dominance partielle à complète) mais inférieur à celui pour $p_t = 1/2$, nul si $h/d = 1$, et négatif dans le cas de superdominance (voir fig. 8). Si $h = 0$, quel que soit le testeur le progrès sera le même. En résumé, si T représente le testeur, avec $h/d > 0$ :

$$\mathrm{T}(p_t = 0) > \mathrm{T}(p_t = 1/2) > \mathrm{T}(p_t = 1)$$

Avec une dominance partielle ($h/d = 1/2$ par exemple) le progrès génétique devient assez indépendant du testeur. L'influence de la nature du testeur augmente avec le degré de dominance.

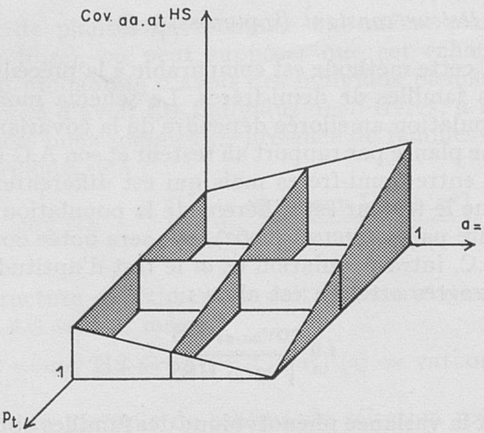



FIG. 8. — *Représentation de l'influence du degré de dominance et de la fréquence $p_t$ du gène dominant chez le testeur sur le progrès intrapopulation à un locus en l'absence de superdominance. Cela représente aussi la variation de fréquence du gène favorable.*

Si la dominance est négative (dominant défavorable) les conclusions sont les mêmes. Donc, en excluant le cas d'un manque de variation, l'absence de progrès, du point de vue génétique pourrait traduire des effets de superdominance, ou de dominance complète si le testeur était fixé pour des gènes dominants aux loci où la population présente une variation. (ce qui est assez peu probable).

En l'absence de superdominance, le testeur idéal apparaît donc comme un testeur homozygote ne portant que des gènes récessifs favorables ou défavorables.

Ce testeur est bien difficile à obtenir : le choix d'un testeur de très faible valeur n'est pas une garantie, compte tenu de l'existence de gènes récessifs favorables. Dans une telle approche, il n'apparaît pas ce que peut être un testeur à base large ou un testeur à base étroite, car il n'est pas tenu compte de la distribution des gènes dominants ou récessifs, favorables ou défavorables, dans le génotype. Pour un testeur homozygote le progrès au niveau de la population sera proportionnel à la fraction Q des loci portant des gènes *récessifs* (si toutefois la population a une variation pour ces loci). Avec $Q = 1$, le progrès sera maximum; si $Q < 1$, la sélection ne sera efficace que pour les loci où le testeur est homozygote récessif. $Q = 0$ conduit aux plus mauvais résultats. Dans ce cas un testeur non homozygote au plus grand nombre de loci possible pourra permettre un progrès aussi ou plus important.

Dans l'ignorance de la valeur de Q pour des testeurs homozygotes, un testeur à base génétique large, c'est-à-dire susceptible de procurer $p = q = 1/2$ au plus grand nombre de loci possible, fera prendre moins de risque en assurant un progrès moyen à tous les loci. Il y aura en moyenne une plus grande variabilité de réponse entre testeurs avec des testeurs homozygotes qu'avec des testeurs hétérozygotes. De telles conclusions obtenues avec l'hypothèse de biallélisme peuvent aussi s'extrapoler au cas de multiallélisme où l'allèle $A_n$ est dominant sur l'allèle $A_{n-1}$, l'allèle $A_o$ étant le plus récessit.

De nombreux résultats expérimentaux tendent à confirmer les conclusions attendues en l'absence de superdominance, avec un certain progrès obtenu quel que soit le testeur (BURTON, 1971; EBERHART, 1973; GENTER, 1973; HORNER, 1963, 1976; RUSSELL, 1973). Cependant il est difficile d'exclure l'hypothèse de superdominance, ou de pseudo superdominance due au linkage, avec ou sans épis-

tasie. Avec de telles situations, il est en effet aussi possible de concevoir un progrès qui serait assez indépendant du testeur, s'il existe des allèles ou blocs de gènes (linkats, DEMARLY, 1975 *c*) ayant une aptitude générale à complémenter leur structure homologue. Il est certain que l'hypothèse de la dominance doit coexister avec l'hypothèse de l'effet favorable de certaines combinaisons d'allèles à l'état hétérozygote quelle qu'en soit la cause. Cette coexistence devrait avoir des conséquences sur le choix d'une méthode de sélection; ce problème ne sera pas envisagé dans le cadre de cette mise au point.

*Comparaison à la méthode de sélection sur A.G.C. intra-population.*

A un locus, dans le cas de biallèlisme avec un testeur tel que $d/h \neq p_t - q_t$ le résultat de la sélection à long terme est la fixation dans la population de l'allèle ayant la plus forte aptitude à la combinaison avec le testeur. Avec la sélection intra-population il existe une autre possibilité de *plateau de sélection* lorsque $p_a - q_a = d/h$. Mais, cette situation n'est possible qu'en présence de superdominance. Au locus donné, avec biallélisme, et dominance partielle, les 2 méthodes auront le même *potentiel*. Si $0 < h/d < 1$, la sélection à testeur constant entraînera au début un progrès plus rapide si $q_t > q_a$. Comme la sélection sur A.G.C. intrapopulation diminuera $q_a$, son efficacité relative par cycle diminuera, alors que la sélection à testeur constant entraînera un taux constant d'amélioration (ou approximativement constant au cours des premiers cycles; l'extrapolation à un grand nombre de cycles n'est pas possible : du fait de la diminution de la variance génétique, la réponse est toujours curvilinéaire).

c) *Sélection individuelle sur la base de la valeur des familles issues d'autofécondation, ou sélection sur $I_1$.*

Cette méthode a l'avantage d'être très pratique à utiliser lorsque l'autofécondation est possible (cas des espèces monoïques non autostériles). Il est souvent plus simple de réaliser une autofécondation qu'une série de croisements. La valeur d'une plante est appréciée par la valeur de la famille qu'elle donne en autofécondation, alors que sa contribution à la génération suivante dépendra de son A.G.C. intrapopulation. Ainsi, le progrès génétique dépendra de la covariance cov $ag$ entre la valeur en autofécondation et l'A.G.C.. Ainsi, il aura pour expression :

$$i\,\theta\,\frac{\text{cov } ag}{\sqrt{\text{var } a}}$$

ou var $a$ représente la variance phénotypique des familles obtenues par autofécondation. Le schéma (*6b*) représente la relation de parenté qui permettrait aussi de calculer cov $G^*\mathcal{M}G$ = cov $ag$.

Les travaux de GILLOIS (1964) et GALLAIS (1970) sur diploïdes et de BOUFFETTE J. (1966) sur tétraploïdes permettent d'expliciter cov $G^*\mathcal{M}G$ et var $G^*$ en fonction des paramètres génétiques classiques. Nous ne rappelons ici que les résultats pour les diploïdes :

$$\text{cov } G^*\mathcal{M}G = 4\varphi_{c(i|i)}\,E(\alpha_i^2) + 4\,\varphi_{c(i|ii)}\,E(\alpha_i\beta_{ii})$$

$$\text{var } G^* = 4\varphi_{v(i|i)}\,E(\alpha_i^2) + 4\,\varphi_{v(i|ii)}\,E(\alpha_i\beta_{ii}) + \varphi_{v(ij|ij)}\,E(\beta_{ij}^2) + \varphi_{v(ii|ii)}\,E(\beta_{ii}^2) + (\varphi_{v(ii|jj)} - F^2)\,[E(\beta_{ii})]^2$$

($\alpha$ représente les effets d'additivité, $\beta$ les effets de dominance : $2E(\alpha_i^2) = \sigma_A^2$, $E(\beta_{ij}^2) = \sigma_D^2$). F est le coefficient de consanguinité des individus obtenus par autofécondation. Si les parents ne sont pas consanguins :

$$\varphi_{c(i|i)} = 1/4 \quad \varphi_{c(ii|i)} = 1/16$$

$$\varphi_{v(i|i)} = 1/2 \quad \varphi_{v(ii|i)} = 1/8 \quad \varphi_{v(ij|ij)} = 1/4 \quad \varphi_{v(ii|ii)} = 1/8$$

$$\varphi_{v(ii|jj)} = 1/8 \qquad F = 1/2$$

(Pour calculer facilement les cœfficients de parenté $\varphi(|)$, il faut remarquer que la variance entre familles est égale à la covariance intra-familles). Toute la variance additive contribue à la variance entre familles issues d'autofécondation, alors que dans la sélection sur A.G.C., la variance additive ne contribue que pour 1/4 de sa valeur à la variance entre familles de demi-frères. En présence d'une variance génétique essentiellement additive, la sélection sur $I_1$ sera donc supérieure à la sélection sur A.G.C. Dans un schéma de sélection sur $I_1$, pour les diploïdes, utiliser les familles ou les plantes mères pour passer à la génération suivante revient au même. Par contre, pour les autopolyploïdes, il vaudra mieux répartir des plantes mères, afin d'éviter une accumulation progressive de consanguinité.

La sélection étant obligatoirement paternelle et maternelle, $\theta = 2$.

d) *Cas d'une sélection simultanée sur A.G.C. et sur la valeur en autofécondation*

Une telle sélection se justifie en vue de la création de variétés synthétiques, pour l'amélioration de l'aptitude générale à la synthèse (WRIGHT, 1973, 1974; GALLAIS 1974 *c*, 1975 *b*). On peut alors sélectionner par niveaux indépendants ou mieux selon un index de type :

$$E(S_i/g_i, a_i) = E(S) + \beta_1 g_i + \beta_2 a_i$$

$E(S_i)$ représentant la valeur attendue des variétés synthétiques à $k$ parents, ayant en commun le parent $i$, E(S) est la moyenne de toutes les variétés synthétiques à $k$ parents, $g_i$ et $a_i$ représentent respectivement les valeurs centrées de l'A.G.C. et de la famille obtenue par autofécondation de l'individu $i$. $\beta_1$ et $\beta_2$ sont l'équivalent de coefficients de régression partielle.

Dans la sélection en vue de la création de variétés hybrides, il peut être aussi important de considérer la valeur en autofécondation, dans le but d'avoir des lignées à bonne aptitude à la combinaison, faciles à maintenir et à assez bon rendement. Une sélection par index pourra être encore utilisée, mais il se posera le problème du poids économique à donner à un critère par rapport à l'autre. Si l'amélioration de la population pour son A.G.C. reste l'objectif principal, il sera possible d'utiliser un index ne faisant intervenir que des coefficients de pondération « biométriques » (coefficient de régression) :

$$E[\mathcal{M}(G_i)/g_i, a_i] = E[\mathcal{M}(G)] + \beta'_1 g_i + \beta'_2 a_i$$

Une telle approche permettrait peut-être une meilleure utilisation de la variabilité.

La valeur en autofécondation pourrait d'ailleurs être introduite comme critère supplémentaire de choix dans toutes les méthodes de sélection récurrente. Une telle modification a déjà été proposée par LONNQUIST (1976) pour la méthode un épi à la ligne.

### 3. — *Sélection familiale*

Dans les méthodes de sélection familiale, ce sont les familles sélectionnées qui forment la génération suivante. Il y a alors deux phases :

— la production des familles,

— l'étude de la valeur des familles.

La durée d'un cycle de sélection sera donc plus faible que dans le cas de sélection sur descendance.

a) *Sélection de familles de demi-frères*

Cette méthode peut être utilisée lorsque la sélection sur la base de l'A.G.C. est difficile à appliquer (difficulté de maintien des parents).

Selon le contrôle de la sélection sur un sexe ( $\theta = 1$) ou 2 sexes ( $\theta = 2$) (voir annexe) deux méthodes sont utilisées pratiquemment. Dans la première les deux phases sont confondues en une seule : c'est la *méthode « un épi à la ligne »* utilisée chez le Maïs. Comme les familles sélectionnées pour former la génération suivante sont pollinisées avant sélection, la sélection ne porte que sur un sexe. Afin de contrôler la sélection sur les 2 sexes, il faut séparer le test du passage à la génération suivante. Une partie de chaque famille servira au test, l'autre partie pour les familles retenues formera la génération suivante par intercroisement (COMPTON et COMSTOCK, 1976). Dans les 2 cas, la relation de parenté expliquant cov $G^*\mathcal{M}(G)$ est la même et le progrès génétique par unité de temps sera le même si, dans le 2[e] cas, chaque phase correspond à une saison normale (mais la recombinaison peut se réaliser en dérobée) :

$$\Delta G = i\,\theta \operatorname{cov} G^*\mathcal{M}(G) \Big/ \sqrt{\operatorname{cov} HS + \frac{1}{b}\left\{ \sigma_p^2 + \frac{1}{n}\left[(\sigma_G^2 - \operatorname{cov} HS) + \sigma^2\right]\right\}}$$

avec les diploïdes sans épistasie :

$$\operatorname{cov} G^*\mathcal{M}(G) = 1/8\,\sigma_A^2, \qquad \operatorname{cov} HS = 1/4\,\sigma_A^2$$

b) *Sélection de familles pleins frères* (croisements biparentaux)

Le schéma est le même que dans le cas de sélection de familles de demi-frères avec contrôle maternel et paternel de la sélection; une partie de chaque famille est conservée, l'autre sert au test. La fig. 6 montre que la parenté en cause est de même nature qu'avec les demi-frères, mais du fait de la présence de 2 parents, le cœfficient de parenté est multiplié par 2 :

$$\operatorname{cov} G^*\mathcal{M}(G) = 1/4\,\sigma_A^2$$

La variance phénotypique entre familles a pour expression :

$$\operatorname{var} P_{FS} = \operatorname{cov} FS + \frac{1}{b}\left\{ \sigma_p^2 + \frac{1}{n}\left[(\sigma_G^2 - \operatorname{cov} FS) + \sigma^2\right]\right\}$$

Le progrès propre à cette méthode a donc pour expression :

$$\Delta G = i\,1/2\,\sigma_A^2 \Big/ \sqrt{\operatorname{var} P_{FS}}$$

c) *Sélection familiale combinée pleins frères-demi-frères*

Une telle méthode ne peut s'appliquer que si l'on a une structure hiérarchique. Le problème est de déterminer les coefficients de l'équation :

$$E(\mathcal{M}G_{ijk}/P_{ij.}, P_{i..}) = \underbrace{\beta_0 + \beta'_1 (P_{i..} - \mu)}_{\substack{\text{sélection}\\ \text{entre familles}\\ \text{demi-frères}}} + \underbrace{\beta'_2 (P_{ij.} - P_{i..})}_{\substack{\text{Sélection}\\ \text{entre familles}\\ \text{pleins frères}\\ \text{intra demi-frères}}}$$

$G_{ijk}$ représente un individu $k$ du croisement $i \times j$, $i$ étant commun à plusieurs croisements.

$P_{ij.}$ est la moyenne des phénotypes de pleins frères du croisement $i \times j$.

$P_{i..}$ est la moyenne des familles de pleins frères ayant $i$ en commun. La détermination des coefficients de l'équation se fait directement par la théorie de la régression multiple. La solution est donnée en annexe.

L'avantage de cette sélection combinée est qu'elle est au moins égale, et en moyenne supérieure à la sélection de familles demi-frères, et à la sélection de familles pleins frères utilisant le même schéma hiérarchique.

4. — *Sélection combinée individu + familles*

Lorsqu'une structure familiale peut être obtenue, la moyenne de la famille apporte déjà une information sur la valeur génétique de ses membres, information qui est moins influencée par le milieu que leur valeur phénotypique. De plus, l'appréciation de la valeur de la famille peut être faite dans un dispositif avec répétitions; une partie des variations non contrôlées au niveau de l'individu pourra donc être éliminée. Il est alors possible de concevoir que, la combinaison de la sélection familiale et de la sélection individuelle, en contrôlant mieux le milieu et en conservant la forte utilisation de la variance additive de la sélection massale, puisse conduire à un progrès génétique supérieur à celui réalisé par chaque méthode prise isolément. L'efficacité de cette méthode a été trop sous-estimée : le sélectionneur dispose en effet souvent d'une structure familiale, il pourrait ainsi augmenter l'héritabilité.

*Un exemple de sélection combinée individu-famille*

A la Station de Lusignan, nous utilisons sur Dactyle, une méthode de sélection récurrente basée selon les caractères sur la valeur de l'individu, la valeur de la famille de pleins frères à laquelle il appartient et la valeur de familles de demi-frères formées par le mélange de 3 familles pleins frères ayant un parent commun (fig. 9). Ainsi sur un ensemble de 1 500 à 3 000 plantes, 120 plantes sont sélectionnées pour différents caractères par niveaux indépendants.

Des groupes (30) de 4 plantes sont alors réalisés en minimisant les parentés intra-groupe. A l'intérieur des groupes, les 4 plantes sont croisées de façon diallèle (la haute prolificité des plantes permet cela). Cela forme 180 familles de pleins frères qui peuvent reconstituer 120 familles de demi-frères. 10 à 20 plantes sont prises par familles de pleins frères ce qui redonne les 1 500 à 3 000 plantes pour un nouveau cycle. L'appréciation de la valeur du matériel se faisant à un stade

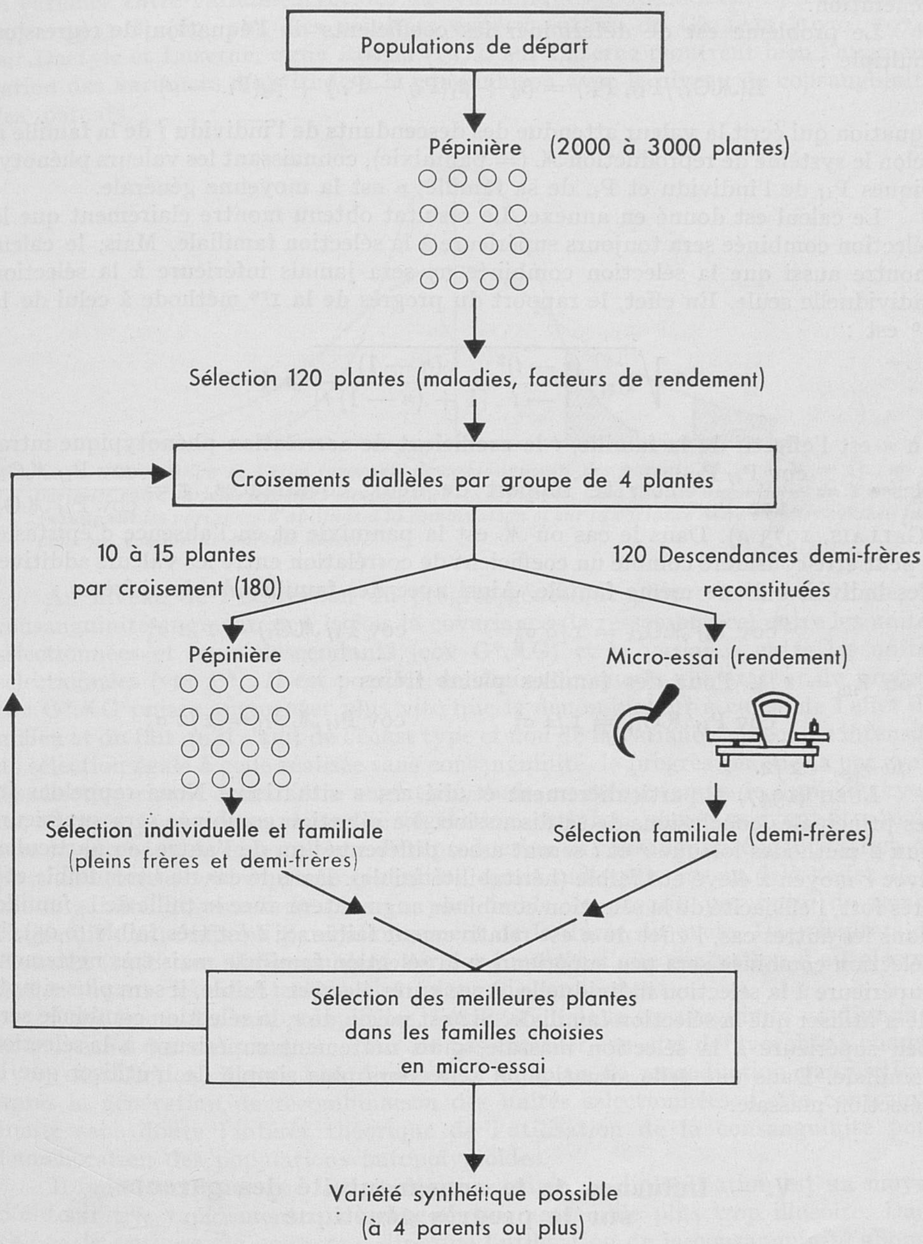



FIG. 9. — *Schéma de sélection récurrente combinée individus-familles utilisé à la Station d'Amélioration des Plantes fourragères de Lusignan sur Dactyle* (Dactylis glomerata) (*un cycle = une génération*) (d'après C. Mousset).

précédant la reproduction, un cycle ne dure que deux ans, c'est-à-dire une génération.

Le problème est de déterminer les coefficients de l'équation de régression multiple :

$$E(\mathcal{M}G_{ij}/P_{ij}, P_{i.}) = \beta_0 + \beta_1(P_{ij} - P_{i.}) + \beta_2(P_{i.} - \mu)$$

équation qui écrit la valeur attendue des descendants de l'individu $j$ de la famille $i$, selon le système de reproduction $\mathcal{M}$ (= panmixie), connaissant les valeurs phénotypiques $P_{ij}$ de l'individu et $P_{i.}$ de sa famille, $\mu$ est la moyenne générale.

Le calcul est donné en annexe. Le résultat obtenu montre clairement que la sélection combinée sera toujours supérieure à la sélection familiale. Mais, le calcul montre aussi que la sélection combinée ne sera jamais inférieure à la sélection individuelle seule. En effet, le rapport du progrès de la 1re méthode à celui de la 2e est :

$$\sqrt{1 + \frac{(r - t)^2}{1 - t} \frac{(n - 1)}{[1 + (n - 1)\, t]}} \geqslant 1$$

où $n$ est l'effectif de la famille, $t$ le coefficient de corrélation phénotypique intra-classe $t = \frac{\text{cov}\, P_{ij}\, P_{ik}}{\text{var}\, P_{ij}}$ et $r$ le rapport de deux covariances, $r = \frac{\text{cov}\, P_{ij}\, \mathcal{M}G_{ik}}{\text{cov}\, P_{ij}\, \mathcal{M}G_{ij}}$ (GALLAIS, 1973 *a*). Dans le cas où $\mathcal{M}$ est la panmixie et en l'absence d'épistasie, $r$ peut être considéré comme un coefficient de corrélation entre les valeurs additives des individus d'une même famille. Ainsi avec des familles de demi-frères :

$$\text{cov}\, P_{ij}\, \mathcal{M}G_{ik} = 1/8\, \sigma^2_A \qquad \text{cov}\, P_{ij}\, \mathcal{M}G_{ij} = 1/2\, \sigma^2_A$$

d'où $r_{HS} = 1/4$. Pour des familles pleins frères :

$$\text{cov}\, P_{ij}\, \mathcal{M}G_{ik} = 1/4\, \sigma^2_A \qquad \text{cov}\, P_{ij}\, \mathcal{M}G_{ij} = 1/2\, \sigma^2_A$$

d'où $r_{FS} = 1/2$.

LUSH (1947) a particulièrement étudié ces 2 situations. Nous rappelons ici les principales conclusions de sa discussion. La sélection combinée sera supérieure aux 2 méthodes lorsque $r$ et $t$ seront assez différents l'un de l'autre, en particulier avec $r$ moyen à élevé et $t$ faible (héritabilité faible). Dans le cas de $t$ très faible et $r$ très fort, l'efficacité de la sélection combinée augmentera avec la taille de la famille, dans les autres cas, l'effet de $n$ est relativement faible. Si $t$ est très faible (0,05), la sélection combinée sera peu supérieure à la sélection familiale mais très nettement supérieure à la sélection individuelle. Avec $r$ très élevé et $t$ faible, il sera plus simple de n'utiliser que la sélection familiale. Si $t$ est voisin de $r$, la sélection combinée sera peu supérieure à la sélection massale, mais nettement supérieure à la sélection familiale. Dans une telle situation, il sera alors plus simple de n'utiliser que la sélection massale.

## V. — Influence de la consanguinité des parents sur le progrès génétique

Dans l'amélioration des plantes allogames, la consanguinité a d'abord été utilisée pour obtenir du matériel homogène, faciliter l'extériorisation de gènes récessifs à effets favorables (DEMARLY, 1954), et surtout pour obtenir du matériel fixé, permettant ainsi un maintien plus ou moins facile des variétés hybrides. Mais d'une façon plus générale, l'intérêt théorique de la consanguinité plus ou

moins poussée, pour un caractère quantitatif affecté par l'hétérosis, est d'augmenter la variance entre variétés, hybrides ou synthétiques (COCKERHAM, 1961; GALLAIS, 1970, 1973 *b*) (fig. 10). Les résultats expérimentaux de GALLAIS (1970, 1974) sur Dactyle et Luzerne, et de ROTILI (1974) sur Luzerne montrent bien l'augmentation des variances d'aptitude à la combinaison avec le niveau de consanguinité des parents.

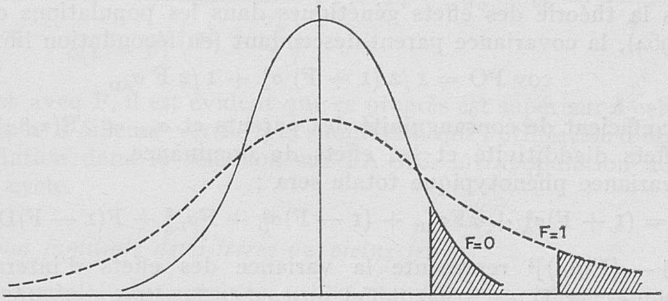



FIG. 10. — *Illustration de l'effet favorable de consanguinité des parents* (F = 0, F = 1) *sur la variance entre variétés hybrides simples chez les diploïdes. Cela illustre aussi l'effet de la consanguinité sur les variances d'aptitude à la combinaison et sur la variance entre variétés synthétiques pour un nombre de parents donné.*

Au niveau de l'expression du progrès génétique propre à une méthode, la consanguinité augmentera à la fois la covariance (la ressemblance) entre les unités sélectionnées et leurs descendants (cov G*$\mathcal{M}$G) et la variance entre les unités sélectionnées (var P*). Il est possible de concevoir que le numérateur du progrès cov G*$\mathcal{M}$G puisse augmenter plus vite que le dénominateur à cause de l'effet du milieu et du fait qu'il s'agit de l'écart type et non de la variance. Avec une intensité de sélection égale à celle réalisée sans consanguinité, le progrès génétique par cycle de sélection risque donc d'être augmenté, mais, en même temps, la durée du cycle est allongée (mesurée en phases de végétation, certaines phases pouvant être réalisées en dérobée). Avec le système de reproduction en consanguinité le plus strict, on peut admettre *a priori* qu'une génération serait suffisante, car au delà l'effet de la consanguinité devenant de plus en plus faible, le progrès par unité de temps risquerait d'être affaibli par l'allongement de la durée du cycle. Des résultats de HORNER (1968) sur Maïs semblent vérifier l'intérêt d'une génération d'autofécondation avant les réalisations des plans de croisement.

Dans le cas des autopolyploïdes, l'utilisation de la consanguinité va diminuer la moyenne des croisements. Pour ne pas cumuler cet effet défavorable à chaque cycle de sélection, il sera bon d'envisager un plan de reproduction panmictique après la génération de recombinaison des unités sélectionnées. Cette contrainte limite sans doute l'intérêt théorique de l'utilisation de la consanguinité pour l'amélioration des populations autopolyploïdes.

Il faut remarquer que l'haploïdisation suivie de diploïdisation est un moyen d'obtenir très rapidement l'homozygote qui ne semble plus trop illusoire. Dans ce cas, la critique qui consiste à dire que l'utilisation de la consanguinité allonge trop la durée du cycle par rapport au progrès attendu peut disparaître. Nous envisagerons l'intérêt d'une telle méthode dans une autre étude. GRIFFING (1975) en a déjà envisagé certains aspects. Dans les formules ci-après, il suffira de considérer F = 1. Le progrès par unité de temps dépendra de la durée de la phase d'haplo diploïdisation.

*Application à quelques méthodes* (pour les diploïdes)

Nous considérerons surtout l'utilisation de l'autofécondation.

1. — *Sélection individuelle phénotypique sur les plantes consanguines*

D'après la théorie des effets génétiques dans les populations consanguines (Gillois, 1964), la covariance parent-descendant (en fécondation libre) devient :

$$\text{cov PO} = 1/2\,(1 + F)\,\sigma_A^2 + 1/2\,F\,\sigma_{AD}$$

F étant le cœfficient de consanguinité des parents et $\sigma_{AD} = 2E(\alpha_i\beta_{ii})$ covariance entre les effets d'additivité et les effets de dominance.

Et la variance phénotypique totale sera :

$$\text{var P} = (1 + F)\sigma_A^2 + 2F\sigma_{AD} + (1 - F)\sigma_D^2 + F\sigma_{D_0}{}^2 + F(1 - F)D_0^2 + \sigma_e^2$$

$\sigma_{D_0}{}^2 = E(\beta_{ii}^2) - [E(\beta_{ii})]^2$ représente la variance des effets d'interaction entre allèles identiques, et $D_0 = E(\beta_{ii})$ l'effet moyen de la consanguinité. Dans le cas d'additivité stricte, on peut vérifier que, avec contrôle maternel et paternel de la sélection :

$$\Delta G = (1 + F)i\sigma_A^2 / \sqrt{(1 + F)\sigma_A^2 + \sigma_e^2} = i\sigma_A^2 \sqrt{(1 + F)} / \sqrt{\sigma_A^2 + \sigma_e^2/(1 + F)}$$

ce qui est évidemment supérieur au progrès réalisé en l'absence de consanguinité qui est égale à $i \dfrac{\sigma_A^2}{\sqrt{\sigma_A^2 + \sigma_e^2}}$

L'efficacité d'une telle méthode peut alors être augmentée par la combinaison *sélection familiale et sélection individuelle* (familles obtenues par autofécondation) et ceci sans effort supplémentaire. Au lieu de répartir au hasard les individus, ce qui serait illogique compte tenu de la structure familiale, on répartit les familles dans un dispositif expérimental (avec $b$ répétitions). Les calculs de Lush (1947) montrent que cette méthode sera particulièrement efficace lorsque $t$ sera faible : l'effet de la consanguinité (autofécondation) est en effet d'augmenter fortement $r$. Ainsi toujours avec additivité, avec une seule génération d'autofécondation, ($F = 1/2$), sans tenir compte de la structure familiale, le progrès sera $i \dfrac{\sigma_A^2}{\sqrt{\sigma_A^2 + 2/3\,\sigma_e^2}} \sqrt{3/2}$ et par sélection familiale :

$$i \frac{\sigma_A^2}{\sqrt{\sigma_A^2 + \dfrac{1}{b}\left(\sigma_p^2 + \dfrac{1/2\,\sigma_A^2 + \sigma_e^2}{n}\right)}}$$

En l'absence de connaissance précise des paramètres $r$ et $t$ il vaudra mieux utiliser la sélection combinée qui ne sera jamais plus mauvaise et souvent meilleure que chacune de ces 2 méthodes. Il est clair que de tels schémas faisant porter la sélection sur la valeur en autofécondation, leur efficacité dépend surtout de la covariance cov $ag$ entre la valeur en autofécondation et l'A.G.C., c'est-à-dire de l'importance de l'additivité. Or, de nombreux résultats expérimentaux sur différentes espèces montrent l'importance de l'additivité (Breese, 1970; Moll, 1967). De telles méthodes pourraient alors être utilisées compte tenu de leur facilité de conduite si l'autofécondation est possible.

2. — *Sélection individuelle pour l'A.G.C. intrapopulation*

Dans cette méthode, cov $G^*\mathcal{M}G$ = var $G^* = \frac{1+F}{4}\sigma_A^2$ le progrès génétique peut donc s'écrire :

$$i\frac{1/4\,\sigma_A^2}{\sqrt{1/4\,\sigma_A^2+\frac{1}{b(1+F)}\left(\sigma_p^2+\frac{\sigma_w^2}{n}\right)}}\sqrt{1+F},\qquad \sigma_w^2=\sigma_G^2-\frac{1+F}{4}\sigma_A^2+\sigma_e^2$$

$\sigma_w^2$ diminuant avec F, il est évident que ce progrès est supérieur à celui où F = 0. CRESS (1967) a d'ailleurs vérifié par simulation que l'utilisation d'une génération d'autofécondation dans la sélection sur l'A.G.C. intrapopulation augmentait le progrès par cycle.

3. — *Sélection familiale demi-frères ou pleins frères*

La consanguinité peut aussi être utilisée dans de tels schémas qui se justifieront par rapport à la sélection directe sur les familles issues d'autofécondation, lorsque cov $ag$ sera faible. Les lignées (ou membres des lignées) serviront alors à produire la structure familiale. Dans le cas de familles de demi-frères :

$$\text{var } G^* = \frac{1+F}{4}\sigma_A^2$$

$$\text{cov } G^*\mathcal{M}G = \frac{1+F}{8}\sigma_A^2$$

et pour des pleins frères :

$$\text{var } G^* = \frac{1+F}{2}\sigma_A^2+\left(\frac{1+F}{2}\right)^2\sigma_D^2$$

$$\text{cov } G^*\mathcal{M}G = \frac{1+F}{4}\sigma_A^2$$

expressions qui conduisent au progrès génétique d'après (3).

Pour les diploïdes, à partir du moment où l'on recroise, la variance génétique totale est égale à celle qu'elle serait sans consanguinité. Il est donc inutile de considérer la sélection sur le phénotype d'un individu. De plus, d'après les calculs de LUSH, la *sélection combinée* individus-familles ne sera guère supérieure à la sélection familiale seule, dès que $t$ sera faible ( < 0,10) et $r$ élevé (0,50) (or $r$ augmente avec F, $r_{HS} = \frac{1+F}{4}$, $r_{FS} = \frac{1+F}{2}$). L'utilisation de la consanguinité se justifie donc surtout pour la sélection familiale.

## VI. — Réponses corrélatives à la sélection intrapopulation

L'amélioration de la valeur propre d'une population panmictique est en fait une amélioration pour l'A.G.C. intrapopulation de ses membres. Les progrès exprimés pour les différentes méthodes sont donc aussi des progrès en A.G.C. intrapopulation. Cette amélioration peut se traduire par une amélioration de la valeur en autofécondation $a$, ce qui est particulièrement intéressant à considérer pour la création de lignées et de variétés synthétiques.

La réponse corrélative de la valeur en autofécondation à la sélection intra-population peut se juger à deux niveaux; au niveau des plantes sélectionnées pour un cycle $n$ et la réponse corrélative dépendra de la covariance cov $a_n^* G_n^*$ entre la valeur en autofécondation $a^*$ de ces plantes et leur critère de sélection $G^*$, ou au niveau de la population $n$ résultant de la recombinaison des plantes sélectionnées issues du cycle $n - 1$ et la réponse corrélative dépendra de la covariance cov $a_n$ $G_{n-1}^*$ entre le critère de sélection $G_{n-1}^*$ des plantes du cycle $n - 1$ et la valeur en autofécondation $a_n$ des descendants qu'elles donnent en panmixie. D'une façon générale, le progrès sur la valeur en autofécondation aura pour expression :

$$a_n^* - a_n = i \text{ cov } / \sqrt{\text{var } P_n^*}$$

$a^*$, $(a)$, représentent les valeurs en autofécondation avec et sans sélection; $i$ est l'intensité de sélection,

Le tableau (3) donne les expressions des covariances en cause pour les principales méthodes, et les deux niveaux de jugement des méthodes.

Les relations de parenté, permettant d'exprimer facilement ces covariances, sont représentées sur la figure 11 *a-b*.

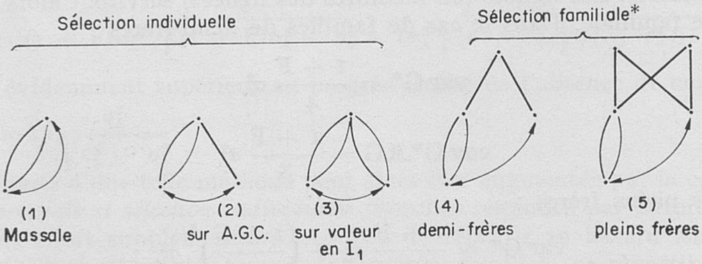



FIG. 11 *a*. — *Représentation des relations de parenté expliquant la réponse corrélative de la valeur en autofécondation à la sélection intrapopulation, au niveau des individus sélectionnés.*
**lorsque les individus testés ne servent pas au passage à la génération suivante.*

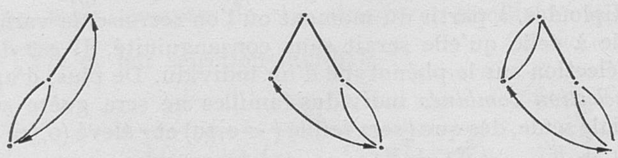



FIG. 11 *b*. — *Représentation des relations de parenté expliquant la réponse corrélative de la valeur en autofécondation à la sélection intrapopulation au niveau de la population issue des plantes sélectionnées.*

Il est évident que pour les deux niveaux de jugement du progrès, la réponse sera la plus forte avec la sélection sur descendance $I_1$. Avec un contrôle paternel et maternel de la sélection, les deux niveaux de jugement conduisent d'ailleurs au même résultat, sauf pour la sélection massale. Dans le cas d'additivité stricte, les deux niveaux conduisent au même résultat et la réponse corrélative par unité de temps sera la plus forte avec la sélection massale.

TABLEAU 3

*Expression des covariances pour la réponse corrélative de la valeur en autofécondation à la sélection intrapopulation.*

| Méthode | cov $a_n^* G_n^*$(1) | cov $a_n G_{n-1}^*$(2) |
|---|---|---|
| Sélection massale . . . . . . | cov $aP$ | 2 cov $ag$ |
| Sélection sur descendance : | | |
| A.G.C. . . . . . . . . . | cov $ag$ | cov $ag$ |
| $I_1$. . . . . . . . . . . | $\sigma_a^2$ | $\sigma_a^2$ |
| Sélection familiale : | | |
| demi-frères . . . . . . | 1/2 cov $ag$ | 1/2 cov $ag$ |
| pleins frères . . . . . | cov $ag$ + 1/2 $\sigma_s^2$ | cov $ag$ + 1/2 $\sigma_s^2$ |

(1) Au niveau des plantes.
(2) Au niveau de la population résultant de la recombinaison des plantes sélectionnées. (sans consanguinité).
cov $aP$ est la covariance entre la valeur en autofécondation d'une plante et sa valeur propre; $\sigma_s$ est la variance d'aptitude spécifique à la combinaison. cov $ag$ est la covariance entre l'A.G.C. d'une plante et sa valeur en autofécondation, $\sigma_a^2$ est la variance entre $I_1$.

Pour rendre les résultats comparables, la sélection a été supposée sur les 2 sens (paternel et maternel) dans le cas des covariances de type 2.

## VII. — Effet de l'arrêt de la sélection dans une population panmictique

Cet effet est particulièrement important à connaître si l'on envisage la commercialisation d'une variété population.

Chez les diploïdes, lorsque la sélection s'arrête et que la population est multipliée en panmixie, avec un effectif illimité, en l'absence d'épistasie, le progrès génétique n'est pas remis en cause, quelle que soit la dominance, puisque lié seulement à la fréquence des gènes favorables. Par contre, celui apporté par l'utilisation de combinaisons épistatiques sera plus ou moins totalement remis en cause, puisque lié à l'arrangement des gènes et qu'une population sous sélection est en déséquilibre de linkage. La panmixie conduisant à l'association au hasard des gènes à des loci différents va donc diminuer les contributions épistatiques. (il restera toujours celles qui par le hasard, la dérive, se seront fixées). GRIFFING (1960) avec des hypothèses classiques en génétique quantitative — grand nombre de gènes à effet faible chacun — a pu montrer que la contribution de la variance d'épistasie tend vers zéro. Il ne restera à l'équilibre que le progrès dû à l'additivité.

Chez les autopolyploïdes, la situation est plus grave, car, du fait de la ploïdie des gamètes, la dominance, en plus de l'additivité, va participer au progrès génétique. Une population autopolyploïde sans sélection est en déséquilibre panmictique (GALLAIS, 1974), à un locus. La situation pour la dominance chez les autopolyploïdes est alors comparable à celle pour l'épistasie chez les diploïdes. En utilisant un raisonnement analogue à celui de GRIFFING, on peut montrer (GALLAIS, 1975 *c*, WRIGHT, 1975) que la contribution des variances d'interaction entre allèles tendra vers zéro au cours des générations de multiplication en panmixie : il ne restera que le progrès dû à l'additivité. Ainsi, chez les autopolyploïdes, même en l'absence d'épistasie, on peut avoir l'illusion d'un progrès, s'il y a beaucoup de dominance : il tendra à disparaître en panmixie sans sélection.

D'une façon plus générale, les progrès les plus stables dans l'amélioration intrapopulation seront ceux dus à la variance des effets additifs $\sigma^2_A$. On comprend alors l'intérêt qu'il y a à estimer l'importance de la variance additive dans la variance génétique totale. Donc pour ne pas surestimer le progrès génétique stable attendu dans les expressions de cov G*$\mathcal{M}$G, il vaut mieux ne retenir que la contribution due à la variance additive. La difficulté est dans l'estimation d'une variance additive qui ne soit pas trop biaisée par l'épistasie chez les diploïdes, ou par la dominance chez les autopolyploïdes.

## VIII. — Éléments non génétiques influençant le choix des méthodes

*Possibilités des générations « en dérobée »*

Une méthode à cycle long peut être supérieure à une méthode à cycle court, sur la base du progrès par cycle, mais inférieure pour le progrès par unité de temps. S'il est possible pour la méthode à cycle long de réaliser certaines générations « en dérobée », la durée peut ne pas augmenter par rapport à une autre méthode nécessitant moins de phases, mais ne tolérant aucune phase en dérobée. Il en résultera une augmentation du progrès génétique par unité de temps. C'est le cas de toutes les méthodes de test sur descendance par rapport aux méthodes de sélection familiale. Le problème est alors de savoir si le progrès supplémentaire attendu justifie les coûts supplémentaires.

*Importance des interaction génotype × milieu*

En présence d'interaction génotype × milieu, la sélection massale sera difficilement utilisable sauf si la multiplication végétative est possible. Sinon il faudra lui préférer une méthode de sélection sur descendance ou de sélection familiale permettant le test dans différents milieux. D'une façon plus générale, dès que l'héritabilité sera faible, il vaudra mieux avoir recours à des schémas où l'unité testée (sélectionnées ou non) sera une famille. Cependant, avec les schémas de sélection récurrente pour une adaptation générales proposés par Arbez (1976) et Lonnquist (1976), une sélection massale est aussi possible.

*Importance de la compétition*

Dans l'étude théorique des méthodes de sélection, l'hypothèse d'absence de compétition est toujours faite. Il y a d'ailleurs là une importante hypothèse à lever, car peu de plantes sont cultivées en l'absence de compétition. Il est des cas où l'importance de la compétition est telle (cas de certaines plantes fourragères) que la valeur individuelle peut n'avoir aucun sens. Dans ces cas, tout schéma faisant intervenir la valeur phénotypique individuelle (sélection massale, sélection combinée individu + famille) ne pourra conduire qu'à un très faible progrès génétique (ou même à un progrès négatif) ( Gallais, 1975 *a*; Griffing, 1967). C'est un cas particulier d'héritabilité très faible, due à une interaction génotype × milieu (milieu formé par les voisins). Dans une telle situation, différentes solutions sont possibles :

— sélectionner en plantes isolées selon un index d'adaptation à la compétition,
— sélectionner pour la valeur individuelle en conditions de compétition,
— utiliser une méthode de sélection sur descendance ou de sélection familiale.

Cette dernière peut d'ailleurs dans une certaine mesure permettre la sélection de génotypes « coadaptés ».

Cependant l'intégration de la compétition dans la théorie de la sélection devrait permettre d'arriver à formuler des solutions plus efficaces. (Gallais, 1976 c; Griffing, 1976).

### *Nature de la biologie florale*

Il est des cas où le contrôle de l'hybridation peut être difficile. Dans ce cas, la sélection sur valeur de la descendance en autofécondation peut être la méthode la plus facile à appliquer. Au contraire, l'autofécondation peut être impossible, ce qui exclura la méthode de sélection sur $I_1$. Avec des plantes à plusieurs inflorescences (bisexuées, ou femelles comme pour le Maïs), il pourra être envisagé de réaliser sur la même plante une autofécondation et un croisement (top-cross par exemple), ce qui permettra de faire une sélection combinée sur ces deux types de descendances.

### *La pérennité des plantes*

Les schémas de sélection sur descendance sont aussi plus faciles à appliquer lorsqu'il y a pérennité des plantes car celle-ci permet une conservation des plantes mères sans modifier l'arrangement des gènes. Si l'autofécondation est possible, dans le cas de plantes annuelles, elle sera réalisée pour maintenir les parents, mais le schéma est plus lourd puisqu'il faut réaliser à la fois autofécondation et croisement. Toutefois, ce schéma comporte des inconvénients pour les espèces autopolyploïdes. Si l'autofécondation et la multiplication végétative sont impossibles, les tests sur descendances ne seront pas envisageables.

### *La possibilité de contrôler la sélection paternelle et maternelle*

Cette possibilité dépend des 2 aspects qui précèdent. Dans le cas de plantes monoïques, le test sur descendance entraîne nécessairement l'action sur les 2 sexes. Dans le cas de sélection familiale, cela dépendra de la volonté du sélectionneur. Dans le cas de sélection massale, elle dépend surtout du type de production (végétative ou reproductive) sur lequel porte la sélection.

### *Le plan de croisement réalisé*

En fait, c'est la méthode retenue qui doit déterminer le plan de croisement et non l'inverse. Mais la facilité de réussite d'un plan est un argument non négligeable pour le choix d'une méthode. Ainsi, les tests d'A.G.C. en fécondation libre, et de valeur en autofécondation sont simples à réaliser. Par contre, tout plan de croisement contrôlé sera plus difficile à réaliser. Dans ce cas, il faudra alors choisir une méthode qui le valorisera au maximum; par exemple, avec le plan hiérarchique une sélection sur descendance se justifie moins qu'une sélection combinée individu

+ familles demi-frères et pleins frères. Il faut aussi se rappeler l'incidence du plan de croisement sur le développement de la consanguinité dans la population sélectionnée.

## IX. — Revue bibliographique de quelques résultats expérimentaux et conclusion

Le but de cette mise au point était de souligner l'importance de l'amélioration des populations en vue de la création de variétés et de donner les éléments permettant l'étude du progrès génétique propre à chaque méthode. Il reste à comparer chaque méthode pour que le sélectionneur puisse choisir la plus efficace pour son matériel. Il n'existe malheureusement pas ou peu de résultats expérimentaux comparant les efficacités de plusieurs méthodes à une échelle assez grande et considérant à la fois l'amélioration *per se* de la population, l'amélioration des performances en combinaison hybride et l'amélioration du niveau des lignées qu'il serait possible d'obtenir. Nous n'avons retenu que les résultats relatifs à l'amélioration du rendement en grains chez le Maïs.

En ce qui concerne la sélection massale, il semble qu'elle ait été trop tôt condamnée. SPRAGUE (1967) soulignait cette situation, en remarquant qu'il n'existe pas de résultats expérimentaux montrant son infériorité. Une mise au point de LE COCHEC (1973) montre que, depuis les premiers travaux de GARDNER (1961), il y a un regain d'intérêt pour la sélection massale.

TABLEAU 4

*Quelques résultats expérimentaux sur Maïs montrant l'efficacité de différentes méthodes de sélection pour l'amélioration de la valeur* per se *des populations pour le rendement en grain. (Ces résultats ne sont pas à comparer entre eux, compte tenu de la diversité du matériel en cause dans les différentes expériences).*

| Méthode de sélection | Auteur | Nombre de cycles | Progrès/cycle (1) | Progrès/an (2) |
|---|---|---|---|---|
| Sélection massale . . . . | GARDNER (1961) | 4 | 3,9 | 3,9 |
| | JOHNSON (1963) | 3 | 11 | 11 |
| | HALLAUER, SEARS (1969) | 6 | 1,5 | 1,5 |
| Sélection familiale demi-frères (ou combinée individu-famille). . . | PATERNIANI (1967) | 3 | 13,6 | 13,6 |
| | WEBEL, LONNQUIST (1967) | 4 | 9,4 | 9,4 |
| Sélection familiale pleins frères . . . . . . | MOLL, STUBER (1971) | 6 | 3,5 | 1,7 |
| | | 6 | 2,3 | 1,1 |
| Sélection sur descendance $I_1$ | BURTON (1971)* | 4 | 4,1 | 1,4 |
| | GENTER (1971) | 4 | 4,7 | 1,5 |
| Sélection sur descendance de testeurs | | | | |
| . Plusieurs testeurs ou testeur base large. . . | BURTON (1971)* | 4 | 1,6 | 0,5 |
| | EBERHART *et al.* (1973) | 7 | 1,4 | 0,5 |
| . un seul testeur homozygote . . . . . . | RUSSEL *et al.* (1973) | 5 | 3,8 à 5,3 | 1,3 à 1,8 |

(*) Même matériel dans les deux expériences.
(1) Progrès relatif, en % de la valeur de la population de départ.
(2) Selon la durée du cycle indiquée au tableau 2.

Un bilan des principaux résultats des méthodes d'amélioration intrapopulation montre même que les progrès les plus élevés ont été atteints avec la sélection massale, ou la sélection combinée individu-famille de demi-frères (il est cependant difficile de comparer les progrès compte tenu des différences de nature des populations utilisées). Avec un contrôle paternel et maternel de la sélection, cette méthode a l'avantage d'utiliser toute la variation additive, la source essentielle de variation. Mais cet avantage peut être supprimé par une forte variation due au milieu. Il faut donc attacher tout son effort à diminuer la variance due au milieu. Ainsi, la division de la parcelle en sous-parcelles avec 100 individus et sélection des *n* individus les meilleurs dans chaque sous-parcelle est une première voie d'amélioration de la méthode. Mais, comme la population sélectionnée résulte de la recombinaison d'un nombre déterminé de géniteurs, il est possible d'effectuer une sélection combinée individu-famille de demi-frères. La structure familiale peut même permettre des répétitions et élimine donc une partie de l'effet terrain. C'est la méthode « un épi à la ligne » utilisée par PATERNIANI (1967) et WEBEL et LONNQUIST (1967) qui a conduit aux progrès spectaculaires de 13,6 et de 9,4 p. 100 par cycle.

La sélection familiale pleins frères apparaît aussi très efficace, dans les études de MOLL *et al* (1967, 1970), pour améliorer la valeur d'une population; elle se traduit aussi par une amélioration des performances en combinaison hybride. Mais, nous l'avons signalé, ceci est attendu pour toutes les méthodes.

L'intégration des effets de la compétition dans la théorie de la sélection pourrait relancer l'intérêt des sélections familiales (GALLAIS, 1975). Les expériences de SUBANDI et COMPTON (1971) montrent que, selon la densité de sélection, on peut attendre une efficacité relative différente des méthodes pour l'amélioration du rendement à forte densité. Ainsi, dans ces travaux, comparant la sélection massale, la sélection sur A.G.C. et la sélection de familles pleins frères, la sélection de pleins frères est attendue la plus efficace quelle que soit la densité, mais, elle l'est bien plus à forte densité.

L'intérêt possible de la sélection sur la valeur des $I_1$ a été souligné par GENTER et ALEXANDER (1962) et HORNER (1963). Les expressions des progrès génétiques (tableau 2) au niveau de la population montrent que si toute la variance était additive, la covariance cov $G^*\mathcal{M}G$ serait 4 fois plus grande pour une sélection sur $I_1$ que pour une sélection sur l'A.G.C., la sélection sur $I_1$ utilisant toute la variance additive. Comme l'écart-type de la distribution des phénotypes des familles n'est pas augmenté dans ces proportions, il doit rester un avantage à la sélection sur $I_1$ lorsque la variance est essentiellement de nature additive.

Différents résultats expérimentaux sur Maïs (DUCLOS, 1968; HORNER, 1969; BURTON, 1971; CARANGAL, 1971; GENTER, 1973) montrent que la sélection sur $I_1$ est souvent égale à supérieure à la sélection sur A.G.C. (en top-cross avec population ou avec des testeurs hybrides). Parmi les expériences citées, seule celle d'HORNER (1969) montre une infériorité de la sélection sur $I_1$. Dans ces expériences, l'étude du progrès sur l'aptitude à la combinaison avec un groupe de testeurs conduit aux mêmes conclusions : la sélection sur $I_1$ est supérieure dans les travaux de GENTER, BURTON, égale pour HORNER, CARANGAL et inférieure pour DUCLOS. En outre, comme cela est attendu en théorie, ces diverses expériences montrent un net avantage de la sélection sur $I_1$ pour la diminution de l'effet de consanguinité. Il est dommage que l'étude des effets génétiques (variances, moyennes) dans les différentes populations concernées ne soit pas assez complète : elle aurait sans doute permis d'expliquer les différences d'efficacité observées. Il apparaît aussi que la sélection récurrente sur $I_1$, par sa facilité d'utilisation, est sans doute

une méthode qui a été négligée. Enfin, il faut rappeler que le progrès maximal serait obtenu en utilisant un index de l'A.G.C. et de la valeur $I_1$. Les résultats de BURTON (1971) semblent montrer que les deux méthodes n'utilisent pas le même type de variabilité; aussi est-il permis d'espérer une supériorité d'un tel index.

Les résultats de RUSSELL *et al* (1973) et HORNER *et al* (1973), RUSSELL et EBERHART (1975) montrent qu'un testeur homozygote (lignée) peut aussi être très efficace pour l'amélioration intrapopulation. Ceux de HORNER *et al.* (1973) montrent qu'il serait même plus efficace pour l'amélioration de l'A.G.C. avec des testeurs non apparentés qu'avec un testeur à base large, représenté par la population de départ.

Ce rapide examen de résultats expérimentaux montre que les principales méthodes envisagées sont assez efficaces pour l'amélioration *per se* des populations. Mais, il est difficile de les classer pour leur efficacité : les expériences de comparaison des méthodes sur le même matériel sont assez rares, et, lorsqu'elles existent, elles ne font intervenir que deux ou trois méthodes et ne vont pas jusqu'à la création de variétés hybrides ou variétés synthétiques. Toutefois, la population améliorée peut être considérée comme une variété synthétique. De telles comparaisons sont en effet très longues, très lourdes et très coûteuses à réaliser. De plus, par les risques importants de « dérive », elles peuvent conduire à des résultats erronés et une comparaison globale manquera toujours de degrés de liberté. Il est plus facile d'avoir une approche analytique de l'efficacité relative de différentes méthodes.

Une étude *a priori*, c'est-à-dire avant expérimentation, des conditions d'efficacité de chaque méthode est possible. A partir des expressions des progrès génétiques, le calcul numérique par la variation de certains paramètres faciles à estimer par le sélectionneur pourra déjà permettre de définir les domaines d'efficacité de chaque méthode. Les différentes méthodes devront alors être comparées à leur optimum, tenant compte de leurs dimensions spatiales et temporelles. Les résultats d'une telle étude seront présentés dans un prochain article. Ces études analytiques, théoriques et expérimentales, doivent être le support indispensable de toute expérimentation globale, synthétique, afin de donner plus de généralité à celle-ci. Celle-ci ne devient même plus indispensable si la validité des hypothèses à la base du modèle d'étude a suffisamment été précisée. Une telle stratégie devrait permettre d'arriver à donner au sélectionneur des règles assez sûres, augmentant ses chances de réussite, avec une utilisation optimale des moyens qu'il veut consacrer à la sélection.

*Reçu pour publication en avril 1976*

## Remerciements

Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à M. RIVES, Chef du Département Amélioration des Plantes, pour le plus grand intérêt qu'il a porté à la rédaction de cette synthèse et à sa publication. Nos plus vifs remerciements vont aussi aux lecteurs de notre manuscrit, MM. ARBEZ, POCHARD et POISSON, pour leurs nombreuses suggestions en vue d'en améliorer le fond et la forme.

## Summary

*Population improvement, breeding methods, and creation of varieties*

*I. — Synthesis on general aspects and on theoretical bases for recurrent selection within population*

In this paper we first emphasize the importance of population improvement for the creation of varieties (lines, hybrids or synthetics) to get the maximum progress at their level.

The critical examination of the traditional system of improvement for some cross fertilized

species, through inbreeding — self-fertilization — and hybridization shows that it has been relatively efficient at short term, but it cannot be very efficient at long term. This is due to an important loss of variability and to a very restricted recombination between loci. The same disadvantages hold for pedigree selection in autogamous species.

From a quantitative genetics point of view, we have shown for cross fertilized species how the performance of the best possible varieties (hybrids, synthetics) depends on the value of the population. To increase this value, with the best use of the genetic variability, it is necessary to stimulate the recombination between loci. This can be realized by recurrent selection which cumulates several cycles of intercrossing followed by selection. To have a compromise between short term and long term efficiencies population improvement must be separated from the creation of varieties. In this strategy, the main axis will be population improvement which can have branch at any cycle, toward the creation of varieties. Population improvement can be an open system. Such a strategy must be also applied to autogamous species.

The structure of one cycle of recurrent selection or of varietal creation, is considered generally introducing transformation operators : the test operator to evaluate the breeding value, or the varietal ability, and the mating system of the selected units to produce the new population or the new variety. Each operator can be a complex, i.e., some combinations of systems of testing and of mating systems. This allows the description and the study of genetic progress of any breeding method, with one or two populations (reciprocal recurrent selection) at the level of the breeding population, or at the level of the developed varieties. We have only considered the case of within population improvement. From the principle of linear prediction, a general expression of the genetic progress for the performance of the random mating breeding population is given, whatever are the system of testing, the system of mating and the level of ploidy. However, we have considered explicitely only the case of diploids. This is a generalization of known results.

Some factors influencing genetic progress are underlined. Consequences of genotype × environment interactions are briefly discussed. According to the importance of these interactions, a general or a specific adaptation breeding program will be developed. The optimum strategy of such programs has to be developed. Another very important point discussed here is the avoidance of inbreeding in the breeding population.

We have specifically considered genetic progress for : mass selection, general combining ability selection (G.C.A. within population, or with an unrelated tester), $S_1$ recurrent selection, combined selection with G.C.A. and $S_1$ values and family selection with different kinds of combined selection. Expression of the genetic progress, taking into account the experimental structure are given for half-sib, full-sib and $S_1$ family selection and for a combined selection of half-sib and full-sib family means. It is proposed, when possible, to add $S_1$ test to all breeding methods with progeny test, including reciprocal recurrent selection.

The potential interest of inbreeding as transformation operator is discussed. For population improvement it may increase the progress per cycle — but with the risk of an important loss of variability if it is too long — and may decrease the progress per unit of time. So, it should not go far. Long inbreeding can be replaced by haplo-diploidisation if load in lethal genes is low. Inbreeding is more readily justified in the creation of varieties, and mainly in this case, it can be replaced by haplo-diploidisation.

The correlated response of value under selfing to selection within population is considered. It is obvious that this correlated response will be higher for $S_1$ recurrent selection. However with an important additive variance, correlated response per unit of time can be greater for mass selection, with pollination control.

The effect of relaxation of selection is also discussed. With some assumptions on the amplitude of genetic effects, it appears that whatever the level of ploidy and the nature of genetic effects, the genetic progress in random mating population in equilibrium will correspond to that predicted by the additive variance.

Some non genetic factors influencing the choice of a breeding method are reviewed. The possibility of an off-season generation allows the use of a progeny test method. Selection with families will allow the evaluation of material with competition and in different locations. The floral biology can be also a limiting factor (self-sterility, degree of prolificacy, control of hybridisation...).

A review of major experimental results of recurrent selection within population in Maize tends to show the efficiency of all methods, with a particular mention of mass selection with the GARDNER's grid system, and of the modified ear-to-row method. The length of cycle of the breeding method with progeny test can decrease the progress per unit of time. However it is difficult to compare the methods on the basis of such results. Further theoretical development on these comparisons seems both possible and necessary.

## Références bibliographiques


ARBEZ M., 1976. Communication personnelle et discussion à l'I.U.F.R.O., *Meeting on Advanced Generation Breeding*, Bordeaux, 14-18 juin 1976.

BENNETT J. H., 1954. The distribution of heterogeneity upon inbreeding. *J. Roy. Stat. Soc. B.*, **16** 88-99.

BOUFFETTE Jacqueline, 1966. *Expression de la covariance génotypique chez les tétraploïdes.* Thèse doctorat 3e cycle. Fac. Sci. Lyon, 101 p.

BREESE E. L., 1969. The measurement and significance of genotype × environment interaction in grasses. *Heredity*, **24**, 27-44.

BREESE E. L., HAYWARD M. D., 1972. The genetic basis of present breeding methods in forage crops. *Euphytica*, **21**, 324-336.

BURTON J. W., PENNY L. H., HALLAUER A. R., EBERHART S. A., 1971. Evaluation of synthetic populations developed from a maize variety (BSK) by two methods of recurrent selection. *Crop Sci.*, **11**, 361-365.

CARANGAL V. R., ALI S. M., KOBLE A. F., RINKE E. H., SENTZ J. C., 1971. Comparison of $S_1$ with test cross evaluation for recurrent selection in Maize. *Crop Sci.*, **11**, 658-661.

COCKERHAM C. C., 1954. An extension of the concept of partitioning hereditary variance for analysis of covariances among relatives where epistasis is present. *Genetics*, **39**, 859-882.

COCKERHAM C. C., 1956. Effects of linkage on the covariances between relatives, *Genetics*, **41**, 138-141.

COCKERHAM C. C., 1970. Avoidance and rate of inbreeding *in* KOJIMA K. (Ed.) *Mathematical Topics in Population Genetics.* Springer Verlag, New York, p. 104-127.

COMPTON W. A., COMSTOCK R. E., 1976. More on modified ear to row selection in Corn. *Crop Sci.*, **16**, 122.

COMSTOCK R. E., MOLL R. H., 1963. Genotype × environment interactions. *in* HANSON W. D. and ROBINSON D. C. (Ed.) *Statistical Genetics and Plant Breeding*, NAS-NRC. Pub., 982, 164-196.

COMSTOCK R. E., MOLL R. H., 1963. Genotype environment interactions. *in Statistical Genetics and Plant Breeding*, NAS-NRC. Pub., 982, 164-196.

COMSTOCK R. E., ROBINSON H. F., 1952. Estimation of average dominance of genes. *in* GOWEN J. W. (Ed.). *Heterosis* p. 494-516. Ames. Iowa State College Press.

DEMARLY Y., 1975 *a*. Communication au *Colloque du Département Amélioration des Plantes sur la formation des lignées diploïdes.* Lusignan, 11-15 octobre 1974.

DEMARLY Y., 1975 *b*. Anther and pollen culture for production of haploids, their utilization in plant breeding. *Report of Eucarpia Meeting of the Fodder Crops Section.* B. NUESCH (Ed.), Zurich. 23-25 avril 1975.

DEMARLY Y., 1975 *c*. Commentaires sur les aptitudes à la combinaison. *Ann. Amélior. Plantes.* **22**, 187-200.

DOGGETT H., EBERHART S. A., 1968. Recurrent selection in Sorghum. *Crop Sci.*, **8**, 119-121.

DOMMERGUES P., 1976. Discussion au *Séminaire sur les « Stratégies Génétiques en Amélioration des Plantes ».* Meribel-les-Allues, 23-28 février 1976.

DUCLOS L. A., CRANE P. L., 1968. Comparative performance of top crosses and $S_1$ progenies for improving population of Corn. *Crop Sci.*, **8**, 191-194.

EBERHART S. A., 1970. Factors effecting efficiencies of breeding methods. *African soils*, **15**, 669-680.

EBERHART S. A., DEBELA S. HALLAUER A. R., 1973. Reciprocal recurrent selection in the BSSS and BSCBI maize populations and half-sib selection in BSSS. *Crop Sci.*, **13**, 451-456.

FEYT H., PELLETIER G., 1976. Étude probabiliste de l'efficacité de la méthode haploïde par rapport à la sélection diploïde chez une espèce autogame. *Ann. Amélior. Plantes*, **26**, (3), 365-386.

FINLAY, K. W., WILKINSON, G. N., 1963. The analysis of adaptation in a plant breeding programme. *Aust. J. agr. Res.*, **14**, 742-754.

FISHER R. A., 1954. A fuller theory of junctions in inbreeding. *Heredity*, **8**, 187-197.

GALLAIS A., 1970. Covariances entre apparentés quelconques avec linkage et épistasie. I. Expression générale. *Ann. Génét. Sél. anim.*, **2**, 281-310.

GALLAIS A., 1973 *a*. Sélection pour plusieurs caractères. Synthèse, critique et généralisation. *Ann. Amélior. Plantes*, **23**, 183-208.

GALLAIS A., 1973 *b*. Some factors affecting the strategy of breeding for yield in cross fertilized forage plants. *Proc. Ist Meeting of the section Eucarpia « Biometrics in plant breeding ».* H. RUNDFELDT and G. WRICKE (Ed.), 9-19.

GALLAIS A., 1974 *a*. Covariances between arbitrary relatives in autotetraploids with panmictic disequilibrium. *Genetics*, **76**, 587-600.

GALLAIS A., 1974. *b* Covariances between arbitrary relatives with linkage and epistasis in the case of linkage disequilibrium. *Biometrics*, **30**, 429-446.

GALLAIS A., 1974 *c*. La formation des lignées chez les espèces allogames. *Colloque du Département Amélioration des Plantes de l'I.N.R.A. sur la sélection des lignées diploïdes*. Lusignan, 11-15 octobre 1974. T.D.R. (1) (à paraître).

GALLAIS A., 1974 *d*. Selection among synthetics. *Theor. appli. Genet.* **44**, 24-30.

GALLAIS A., 1974 *e*. Prediction of vigour and choice of parents for a synthetic variety. Application to Cooksfoot, *Dactylis glomerata* L. 7th *Congr. Eucarpia*. Budapest, 25-29 juin 1974; Elsevier, 319-321.

GALLAIS A., 1975 *a*. Sur quelques aspects de la compétition en amélioration des plantes. *Ann. Amélior. Plantes*, **25**, 51-64.

GALLAIS A., 1975 *b*. Prévision de la vigueur et sélection des parents d'une variété synthétique. *Ann. Amélior. Plantes*, **25**, 233-264.

GALLAIS A., 1975 *c*. Selection with truncation in autotetraploids. Comparison with diploids. *Theor. appl. Genet.*, **46**, 387-394.

GALLAIS A., 1975 *d*. The use of heterosis in autotetraploid cross fertilized plants with some application to Lucerne and Cocksfoot. *Proc. Meeting of the Fodder Crops Section of Eucarpia*. Zurich, 23-25 April 1975. B. NUESCH (Ed.), 50-56.

GALLAIS A., 1975 *e*. Réflexions sur la nature de l'hétérosis chez les plantes allogames. *in* l'Heterosis : Aspects théoriques et expérimentaux *Bull. techn. Départ. Génét. anim.* (I.N.R.A.) **24**, 23-34.

GALLAIS A., 1976 *a*. Sur la signification de l'aptitude générale à la combinaison. *Ann. Amélior. Plantes*, **26**, 1-13.

GALLAIS A., 1976 *b*. Communication au *Séminaire « Stratégies génétiques en Amélioration des Plantes »*. Méribel-les-Allues, 23-28 février 1976. T.D.R. (1), **2**, 9-14.

GALLAIS A., 1976 *c*. Effects of competition on means, variances and covariances in quantitative genetics with au application to general ability selection. *Theor. appl. Genet*; **47**, 189-195.

GALLAIS A., GUY P., 1970. Breeding for heterosis into autotetraploids. *Eucarpia Fodder Crops Section, Meeting*. Station d'Amélioration des Plantes Fourragères, Lusignan, 15-16-17 septembre 1970. Report Ed. S.E.I. p. 105-118.

GARDNER C. O., 1961. An evaluation of the effects of mass selection and seed irradiation with thermal neutrons on yield of Corn. *Crop Sci.*, **1**, 241-245.

GARDNER C. O., 1963. Estimation of genetic parameters in cross fertilized plants and their implications in plant breeding. *in* HANSON W. D., ROBINSON H. F. (Ed.) *Statistical genetics and plant breeding*. NAS-NAC., 982, 225-252.

GARDNER C. O., 1972. Performance of hybrids involving selected $S_2$ lines from Hays Golden and mass selected population of corn. *Agronomy Abst.*, Amer. Soc. Agron., p. 7.

GENTER C. F., 1971. Yields of $S_1$ lines from original and advanced synthetic varieties of maize. *Crop Sci.*, **11**, 821-824.

GENTER C. F., 1973. Comparison of $S_1$ and test-cross evaluation after two cycles of recurrent selection in maize. *Crop Sci.*, **13**, 524-527.

GENTER C. F., ALEXANDER D. E., 1962. Comparative performance of $S_1$ progenies and test-crosses of corn. *Crop Sci.*, **2**, 416-419.

GILLOIS M., 1964. *La relation d'identité en génétique*. Thèse Fac. Sci. Paris. 295 p.

GILMORE E. C., 1964. Suggested method of using reciprocal recurrent selection in some naturally self-pollinated species. *Crop Sci.*, **4**, 323-325.

GOULAS C. K., LONNQUIST J. H., 1976. Combined half-sib and $S_1$ family selection in a maize composite population. *Crop Sci.* **16**, 461-464.

GRIFFING B., 1960. Theoretical consequences of truncation selection based on the individual phenotype. *Aust. J. biol. Sci.*, **13**, 307-343.

GRIFFING B., 1962. Prediction formulae for general combining ability selection methods utilizing one or two random mating populations. *Aust. J. biol. Sci.*, **15**, 650-655.

GRIFFING B., 1967. Selection in reference to biological groups. I. Individual and group selection applied to populations of unordered groups. *Aust. J. biol. Sci.*, **20**, 127-139.

(1) TDR, Bulletin de liaison interne du Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes de l'I.N.R.A., a une circulation restreinte; une copie de l'article cité peut être obtenue en s'adressant au Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes, 11, rue Jean-Nicot, 75007 Paris, ou l'auteur.

GRIFFING B. 1975. Efficiency changes due to use of doubled haploids in recurrent selection methods. *Theor. appl. Genet.*, **46**, 367-386.

GRIFFING B. 1976. Selection in reference to biological groups. VI. Use of extreme forms of non random groups to increase selection efficiency. *Genetics*, **82**, 723-731.

HALLAUER A. R., 1967. Development of single cross hybrids from two-eared maize populations. *Crop Sci.*, **7**, 192-195.

HALLAUER A. R., 1970. Genetic variability for yield after four cycles of reciprocal recurrent selection in maize. *Crop Sci.*, **10**, 482-485.

HALLAUER A. R., SEARS J. H., 1969. Mass selection for yield in two varieties of maize. *Crop Sci.*, **9**, 47-50.

HANSON W. D., 1959. The breakup of initial linkage blocks under selected mating systems. *Genetics*, **44**, 857-868.

HARRIS D. L., 1964. Genotypic covariances between inbred relatives. *Genetics*, **50**, 1 319-1 348.

HORNER E. S., 1968. Effect of a generation of inbreeding on genetic variation of corn as related to recurrent selection procedures. *Crop Sci.* **8**, 32-35.

HORNER E. S., CHAPMAN W. H., LUTRICK M. C., LUNDY H. N., 1969. Comparison of selection based on yield of top cross progenies and of $S_1$ progenies in maize. *Crop Sci.*, **9**, 539-543.

HORNER E. S., LUNDY H. W., LUTRICK M. C., CHAPMAN W. H., 1973. Comparison of three methods of recurrent selection in maize. *Crop Sci.*, **13**, 385-489.

HORNER E. S., LUNDY H. W., LUTRICK M. C., WALLACE R. N., 1963. Relative effectiveness of recurrent selection for specific and for general combining ability in corn. *Crop Sci.*, **3**, 63-66.

HORNER E. S., LUTRICK M. C., CHAPMAN W. H., MARTIN F. G., 1976. Effect of recurrent selection for combining ability with a single cross tester in Maize. *Crop Sci.*, **16**, 5-8.

JENSEN, N. F., 1970. A diallel selective mating system for cereal breeding. *Crop Sci.*, **10**, 629-635.

JOHNSON E. C., 1963. Mass selection for yield in a tropical corn variety. *Agron. Abst.*, Amer. Soc. Agron. p. 82.

KEMPTHORNE O., 1954. The correlation between relatives in a randon mating population. *Proc. Royal Soc.*, London B., 143, 103-113.

KEMPTHORNE O., 1957. *An introduction to genetic statistics*. Wiley, New York, 545 p.

KIMURA M., CROW J.-F., 1963. On the maximum avoidance of inbreeding. *Genet. Res.*, Camb., **4**, 399-415.

KRAMER A., 1976. *Contrôle génétique de la croissance en hauteur chez le Pin maritime. : rôles des interactions entre gènes et de l'interaction génotype × environnement.* Mémoire fin d'Études E.N.I.T.E.F., INTRA-CNRF.

LE COCHEC F., 1972. Données récentes sur la sélection massale. *Ann. Amélior. Plantes*, **22**, 389-397.

LONNQUIST J. H., 1964. A modification of the ear-to-row procedure for the improvement of maize populations. *Crop Sci.*, **4**, 227-228.

LONNQUIST J. H., 1967. Mass selection for prolificacy in maize. *Züchter*, **37**, 185-188.

LONNQUIST J. H., 1968. Further evidence on test cross versus line performance in maize. *Crop Sci.*, **8**, 50-53.

LONNQUIST J. H., 1976. (Communication personnelle).

LUSH J. L., 1943. Family merit and individual merit as bases for selection. Part I. *Amer. Nat.*, **81**, 241-261. Part II. *Amer. Nat.*, **81**, 362-379.

MALECOT G., 1948. *Les mathématiques de l'hérédité*. Masson et Cie, Paris, 63 p.

MARTIN J. M., HALLAUER A. R., 1976. Relation between heterozygosis and yield for four types of maize inbred lines. *Egypt. J. Genet. Cytol.* **5**, 119-135.

MATZINGER D. F., COCKERHAM C. C., WERNSMAN E. A., 1976. Single character and index mass selection with random mating in a naturally self fertilizing species. *International Conference on Quantitative Genetics*. Ames. IOWA. U.S.A. 16-21 August.

MOLL R. H., ROBINSON H. F., 1967. Quantitative genetic investigation of yield of Maize. *Züchter*, **37**, 192-199.

MOLL R. H., STUBER C. W., 1971. Comparisons of response to alternative selection procedures initiated with two populations of Maize. *Crop Sci.*, **11**, 706-711.

NEI M., 1963. Effect of selection on the components of genetic variance. in HANSON W. D., ROBINSON H. F. (Ed.). *Statistical Genetics and Plant Breeding*. N.A.S., N.R.C., Pub. 982, p. 501-515.

PATERNIANI E., 1967. Selection among and within half-sib families in a Brazilian population of maize (*Zea mays*). *Crop Sci.*, **7**, 212-215.

PENNY L. H., EBERHART S. A., 1971. Twenty years of reciprocal recurrent selection with two synthetic varieties of maize. *Crop Sci.*, **11**, 900-903.

PENNY L. H., RUSSELL W. A., SPRAGUE G. F., HALLAUER A. R., 1963. Recurrent selection. *in* HANSON W. D., ROBINSON H. F. (Ed.) *Statistical Genetics and Plant Breeding*. NAS. Pub., 982, 352-367.

REDDEN R. J., JENSEN N. F., 1974. Mass selection and mating systems in cereals. *Crop Sci.*, **14**, 345-350.

RIVES M., 1975. Communication au *Colloque du Département Amélioration des Plantes sur la formation des lignées diploïdes*. Lusignan, 11-15 octobre 1974.

RIVES M., 1976. Communication au *Séminaire sur les « Stratégies Génétiques en Amélioration des Plantes »*, Méribel-les-Allues. 23-28 février 1976. *T.D.R.*, **2**, 21-30.

ROTILI P., ZANNONE L., 1974. General and specific combining ability in Lucerne at different levels of inbreeding and performance of second generations synthetics measured in competitive situations. *Euphytica*, **23**, 569-577.

ROUSSET M., 1976. Les isozymes : leur signification, leur utilisation. *Séminaire sur les « Stratégies Génétiques en Amélioration des Plantes »* Méribel-les-Allues. 23-28 février 1976. *T.D.R.*, **2**, 31-39.

ROUVIER R., 1969. *Contribution à l'étude des index de sélection sur plusieurs caractères*. Thèse Doctorat 3e Cycle, Fac. Sci. Paris.

RUSSELL W. A., 1973 *b*. Improvement of maize populations for sources of inbred lines. *Proc.* 7th *Meeting of Eucarpia, Maize and Sorghum Section*. Zagreb, 3-6 sept. 1973.

RUSSELL W. A., 1976. Genetic effects and genetic effect × year interactions at three loci in sublines of a maize inbred line. *Can. J. Genet. Cytol.*, **18**, 23-33.

RUSSELL W. A., EBERHART S. A., URBANA A., VEGA O., 1973 *a*. Recurrent selection for specific combining ability for yield in two maize populations. *Crop Sci.*, **13**, 257-261.

SCHNELL F. W., 1963. The covariance between relatives in the presence of linkage. *in* HANSON W. D., ROBINSON H. F. (Ed.). *Statistical Genetics and Plant Breeding*, Natl. Acad. Sci., Natl. Res. Council, Pub., 982, 468-483.

SCHNELL F. W., 1973 *b*. Der Trend zu Dreiweg-und Einfachhybriden in genetischer Sicht. In Der Weg zum Austria-Hybriden. **25** *Jahre Saatzucht* Gleisdorf Steiermark, Osterreich (Austria).

SCHNELL F. W., GEIGER H. H., 1973 *a*. Possible genetic causes of differences between the mean yields of various types of hybrids. *in* RUNDFELDT H. and WRICKE G. (Ed.). *Meeting of Eucarpia Section « Biometrics in plant breeding »*. 5-9.

SCHNELL F. W., 1975. Type of variety and average performance in hybrid maïze. *Z. Pflanzenzücht.*, **74**, 177-188.

SPRAGUE G. F., 1966. Quantitative genetics in plant improvement. *in* FREY K. J. (Ed.) *Plant Breeding*. University Press, Ames, Iowa, 315-354.

SUBANDI, COMPTON W. A., 1974. Genetic studies in an exotic population of Corn grown under two plant densities. II. Choice of a density environment for selection. *Theor. appl. Genet.*, **44**, 193-198.

SUNESON, C. A., 1951. Male sterile facilitated synthetic hybrid Barley. *Agron. J.*, **43**, 234-236.

SUNESON, C. A., 1956. An evolutionary plant breeding method. *Agron. J.*, **48**, 188-191.

VERHALEN L. M., BAKER J. L., MCNEW R. N., 1975. Gardner's grid system and plant selection efficiency in Cotton. *Crop Sci.*, **15**, 588-591.

WEBEL O. D., LONNQUIST J. H., 1967. An evaluation of modified ear to row selection in a population of Corn. *Crop Sci.*, **17**, 651-655.

WRIGHT A. J., 1973. The selection of parents for synthetic varieties of outbreeding diploid crops. *Theor. appl. Genet.*, **43**, 79-82.

WRIGHT A. J., 1974. A genetic theory of general varietal ability for diploid crops. *Theor. appl. Genet.*, **45**, 163-169.

## Annexe

*Progrès par sélection familiale sur familles de demi-frères* (fig. 12)

a) *Test confondu avec le passage à la génération suivante* (méthode un épi à la ligne)

Dans le cas général, les descendants d'une seule plante (prise comme femelle par exemple) ne sont pas tous des demi-frères, il y a aussi une certaine proportion de plein frères. Cette proportion est difficile à déterminer. Elle dépend de la taille de l'effectif. Dans le cas de contrôle des croisements, on peut retenir un système de croisement avec un échantillon de $m$ males différents par plante. Dans ce cas, la variance phénotypique totale d'une famille serait avec le même nombre $n$ de descendants par croisements :

$$\frac{1}{mn}(\sigma_G^2 + \sigma^2) + \frac{n-1}{mn}\operatorname{cov} FS + \frac{m-1}{m}\operatorname{cov} HS$$

Dans le passage à la génération suivante, le progrès génétique dépendra, si tous les individus retenus ont participé au test, de 3 types de covariances illustrés sur les schémas suivants (fig. 12) : (en éliminant les possibilités de croisement entre individus d'une même famille).

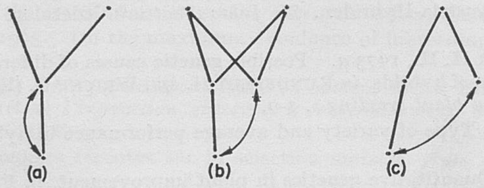



FIG. 12. — *Les différentes relations entre apparentés expliquant le progrès génétique dans le cas d'une sélection familiale avec* m *mâles par plante femelle et* n *descendants par croisement, la fréquence des 3 types de covariances est alors respectivement* 1/mn, (n—1)/mn, 1—1/m.

Si les individus testés ne participent pas à la génération suivante, la covariance $a$ disparaît.

Si on peut considérer que le nombre de mâles possible est grand avec une pollinisation au hasard, il est probable que le nombre d'individus d'une famille de pleins frères sera faible. A la limite, si on considère $n = 1$, la famille testée ne comprendra que des demi-frères, et seule interviendra la covariance $c$. C'est l'hypothèse qui est souvent faite en amélioration des plantes, d'où l'expression approximative du progrès génétique donnée dans le tableau 2.

b) *Test préalable au passage à la génération suivante* (c'est aussi la méthode un épi à la ligne mais avec conservation d'un demi épi pour la recombinaison).

Les familles étudiées ont la même structure que dans le schéma précédent; leur variance phénotypique est donc la même et dépendra de la stucture familiale qui peut être admise. Mais comme le test est séparé du passage à la génération suivante, seules interviendront les covariances $b$ et $c$. Si $m$ est grand et $n = 1$, le progrès génétique est alors celui donné au tableau 2.

*Expression générale du progrès par sélection combinée individu-famille*

L'index est du type :

$$E(\mathcal{M}G_{ji}/P_{ji}, P_{j.}) = \beta_0 + \beta_1(P_{ji} - P_{j.}) + \beta_2(P_{j.} - P_{..}).$$
$$= \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2$$

$P_{ji}$ représente la valeur phénotypique de l'individu $i$ de la famille $j$ et $\mathcal{M}G_{ji}$ représente la valeur de la descendance d'un tel individu en panmixie. $P_{j.}$ est la moyenne de la famille $j$. Les deux variables $X_1$ et $X_2$ sont indépendantes, d'où :

$$\beta_1 = \frac{\text{cov } X_1Y}{\text{var } X_1} \qquad \beta_2 = \frac{\text{cov } X_2Y}{\text{var } X_2}$$

Nous supposerons que les familles sont testées dans un essai à $b$ répétitions avec $n$ individus par parcelle.

*Applications aux espèces diploïdes, en l'absence d'épistasie*

(Le même principe de calcul pourrait être appliqué aux espèces autopolyploïdes, de plus, la considération de l'épistasie ne poserait aucune difficulté).

1. — *Sélection combinée individu-famille de demi-frères* (avec seulement sélection maternelle).

Nous considèrerons que l'approximation précédente, un descendant par pollinisateur et grand nombre de pollinisateurs est valable. De plus, avec l'approximation que $\frac{nb - 1}{nb} \# 1$, il résulte :

$$\beta_1 = \frac{\text{cov } Y(P_{ji} - P_{j.})}{\text{var } (P_{ji} - P_{j.})} \simeq \frac{1/2\ \sigma^2_A - 1/8\ \sigma^2_A}{\text{var } P_{j1} - \text{var } P_{j.}}$$

$$\text{var } P_{ji} = \sigma^2_G + \sigma^2_e \qquad \text{var } P_{j.} = \text{cov HS} + \frac{1}{b}\left(\sigma^2_p + \frac{\sigma^2_w}{n}\right)$$

$$\beta_2 \simeq \frac{1/8\ \sigma^2_A}{\text{cov HS} + \frac{1}{b}\left(\sigma^2_p + \frac{\sigma^2_w}{n}\right)}$$

d'où l'expression de l'index :

$$I = \frac{3/8\ \sigma^2_A}{\text{var } P_{ji} - \text{var } P_{j.}} X_1 + \frac{1/8\ \sigma^2_A}{\text{var } P_{j.}} X_2$$

le progrès génétique $\Delta G$ sera :

$$\Delta G_I = i_I\ \sigma_I$$

Par sélection individuelle après la sélection familiale (sélection par niveaux indépendants), le progrès serait :

$$\Delta G_N \simeq \frac{3/8\ \sigma^2_A}{\sqrt{\text{var } P_{ji} - \text{var } P_{j.}}} i_i + \frac{1/8\ \sigma^2_A}{\sqrt{\text{var } P_{j.}}} i_f$$

$i_f$ représentant l'intensité de sélection entre familles et $i_i$ l'intensité de sélection à l'intérieur de chaque famille sélectionnée.

D'après la théorie des index (GALLAIS, 1973), à intensité de sélection finale égale,

$$\Delta G_I < \Delta G_N$$

Si le produit $nb$ est assez faible et si les individus sélectionnés participent à la moyenne $P_{j.}$, le coefficient $\beta_1$ est à multiplier par $\frac{nb-1}{nb}$ et le coefficient $\beta_2$ par $\frac{nb+3}{nb}$.

2. — *Sélection combinée individu-familles de pleins frères* (avec seulement sélection maternelle).

$\text{cov}\, X_1Y = 1/4\, \sigma^2_A \left(\times \frac{nb-1}{nb}\right.$ si $nb$ faible, lorsque les individus sélectionnés participent à la moyenne de la famille$\left.\right)$

$$\text{cov}\, X_2Y = 1/4\, \sigma^2_A \left(\times \frac{nb+1}{nb}\right)$$

$$\text{var}\, P_{ijk} = \sigma^2_G + \sigma^2_e \to \sigma^2_e$$

$$\text{var}\, P_{ij.} = \text{cov FS} + \frac{1}{b}\left(\sigma^2_p + \frac{\sigma^2_w}{n}\right)$$

$P_{ijk}$ représentant la valeur phénotypique de l'individu $k$ de la famille $ij$.

Le progrès avec la sélection par index ou la sélection par niveaux indépendants s'obtient avec les éléments ci-dessus comme précédemment.

3. — *Sélection combinée individu-familles* $I_1$.

$\text{cov}\, X_1Y = 1/2\, \sigma^2_A + 1/4\, \sigma_{AD} \left(\times \frac{nb-1}{nb}\right.$ si $nb$ faible et si les individus sélectionnés participent à la moyenne de la famille$\left.\right)$

$$\text{cov}\, X_2Y = \sigma^2_A + 1/4\, \sigma_{AD} \left(\frac{2nb+1}{2nb}\, \sigma^2_A + \frac{nb+1}{4nb}\, \sigma_{AD}\right)$$

$$\text{var}\, P_{ijk} = \sigma^2_{G'} + \sigma^2_e \qquad \text{(voir texte)}$$

$$\text{var}\, P_{ij.} = \sigma^2_a + \frac{1}{b}\left(\sigma^2_p + \frac{\sigma^2_w}{n}\right) \qquad \text{(voir texte)}$$

*Cas d'une sélection familiale combinée familles de demi-frères-familles de pleins frères*

Une telle sélection peut être réalisée lorsqu'une plante $i$ (mâle) est croisée à plusieurs autres plantes $j$ (femelles) et que tous les croisements sont individualisés. Considérons qu'une plante soit croisée à $m$ plantes et qu'il y ait $n$ descendants par croisement, et que les individus utilisés pour former le cycle suivant ne participent pas aux moyennes de familles (cette méthode permet le contrôle paternel

et maternel de la sélection). Une famille étant sélectionnée en bloc, l'index est du type :

$$I = E(\mathcal{M}G_{ij.}/P_{ij.}, P_{i..}) = \beta_0 + \beta_1(P_{i..} - P_{...}) + \beta_2(P_{ij.} - P_{i..})$$

$$\beta_1 = \frac{\text{cov } P_{i..}\, \mathcal{M}G_{ij.}}{\text{var } P_{i..}} \qquad \beta = \frac{\text{cov }(P_{ij.} - P_{i..})\, \mathcal{M}G_{ij.}}{\text{var } P_{ij.} - \text{var } P_{i..}}$$

Nous représenterons par cov B et cov C les covariances associées aux schémas *b* et *c* de la figure 12 de l'annexe. Alors :

$$\text{cov }(P_{i..} - P_{...})\mathcal{M}G_{ijk} = \frac{1}{m}\text{ cov B} + \frac{m-1}{m}\text{ cov C}$$

$$\text{cov }(P_{ij.} - P_{i..})\mathcal{M}G_{ijk} = \text{cov B} - \left(\frac{1}{m}\text{ cov B} + \frac{m-1}{m}\text{ cov C}\right)$$

$$= \text{cov B} - \text{cov C}$$

$$\text{var } P_{i..} = \frac{1}{mn}(\sigma^2_G + \sigma^2_e) + \frac{n-1}{mn}\text{ cov FS} + \frac{m-1}{m}\text{ cov HS}$$

$$= \text{cov HS} + \frac{1}{m}(\text{cov FS} - \text{cov HS})$$

$$+ \frac{1}{mn}(\sigma^2_P - \text{cov FS})$$

$$\text{var }(P_{ij.} - P_{i..}) = (\text{cov FS} - \text{cov HS}) + \frac{1}{n}(\sigma^2_P - \text{cov FS})$$

d'où

$$\beta_1 = \frac{\text{cov C} + \frac{1}{m}(\text{cov B} - \text{cov C})}{\text{cov HS} + \frac{1}{m}(\text{cov FS} - \text{cov HS}) + \frac{1}{mb}\sigma^2_e}$$

$$= \frac{1/4\ \sigma^2_A\ (m+1)}{mD_1}$$

$$\beta_2 = \frac{\text{cov B} - \text{cov C}}{\text{cov FS} - \text{cov HS} + \frac{1}{b}\sigma^2_e} = \frac{1/4\ \sigma^2_A}{D_2}$$

avec $\sigma^2_e = \sigma^2_p + \dfrac{\sigma^2_G - \text{cov FS} + \sigma^2}{n}$

La deuxième écriture des cœfficients $\beta_1$ et $\beta_2$ est plus restrictive que la première, elle ne considère que le progrès dû à la variance additive. Cela conduit à un progrès attendu de :

$$i\sigma_1 = i\ 1/4\ \sigma^2_A \sqrt{\frac{(m-1)}{m\ D_2} + \frac{(m+1)^2\,(p-1)}{pm^2\ D_1}}$$

*p* étant le nombre de plantes mâles (parent commun).

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** 3, 331-339.

# Bilan de la première variété de Fétuque élevée du Catalogue, sélectionnée pour la valeur alimentaire

M. GILLET et L. HUGUET

avec la collaboration technique de R. TRAINEAU

*Station d'Amélioration des Plantes fourragères, I.N.R.A.,*
86600 *Lusignan*

## Résumé

La valeur alimentaire de la fétuque « Ludelle » sélectionnée pour son appétibilité, a été étudiée sur des essais pâturés, par notations à l'œil, puis sur des moutons en cages individuelles, en comparaison avec des témoins de précocité semblable.

La consommation de « Ludelle » est supérieure à celle des témoins. Seule, « Clarine » est aussi bonne en été sec mais mauvaise aux autres saisons. La digestibilité de « Ludelle » est également supérieure à celle de « Clarine ». Le résultat est que la quantité de matière sèche ingérée de « Ludelle » est plus proche de celle d'un ray-grass d'Italie que de celle de « Clarine ».

La sélection de la Fétuque élevée pour la valeur alimentaire est donc possible et efficace. Elle permet d'espérer que cette espèce puisse remplacer le Ray-grass d'Italie sur une partie non négligeable de sa surface.

## Introduction

Il est vendu chaque année 7 à 8 000 quintaux de semences de Fétuque élevée, chiffre en progression lente actuellement. Si on tient compte de la durée probable de ces prairies, on peut calculer qu'elles occupent 100 000 hectares, à un facteur 2 près. Le même calcul donne, pour le Ray-gras d'Italie, 700 000 hectares, soit 7 fois plus. L'ensemble des prairies temporaires représente 4 millions d'hectares.

La Fétuque élevée est donc peu cultivée en France. Pourtant elle possède de nombreux avantages importants : c'est la graminée la plus *adaptable* aux différentes conditions de milieu, la plus *productive*, la plus *pérenne* et celle qui a la plus *longue saison de végétation*.

Mais elle a aussi de gros inconvénients. Son *appétibilité* diminue vite quand les repousses vieillisent; son *implantation* est lente et difficile. Elle est également réputée avoir une montaison trop explosive au printemps, mais ceci n'est vrai que pour la plus ancienne variété actuellement inscrite au Catalogue français, qui est encore la plus connue : « Manade », très précoce. Tous ces points ont été discutés ailleurs

(GILLET, 1973; JADAS-HÉCART et GILLET, 1969; GILLET, 1975; JADAS-HÉCART et GILLET, 1975).

Or, la Fétuque élevée possède une très grande variabilité génétique pour tous ses caractères et on peut espérer sélectionner dans presque n'importe quelle direction.

Nous avons essayé de diminuer les défauts de cette espèce plutôt que d'augmenter encore ses qualités. Ainsi, nous cherchons à la rendre compétitive vis-à-vis du Ray-grass d'Italie, plutôt qu'à remplacer simplement les variétés actuelles sur leurs surfaces réduites.

L'existence de la variété tardive « Ludion », inscrite en 1966, avait montré que les variétés ayant ce type de précocité avaient une montaison bien plus facile à maîtriser que les très précoces. C'est pourquoi nous avons choisi comme première urgence d'améliorer l'*appétibilité*, dans ce groupe de précocité : on peut en effet espérer compenser la lenteur d'implantation par un semis sous un couvert bien choisi. Ce problème a déjà été étudié (PLANQUAERT, 1972).

Notre première étape fut de rechercher des critères de sélection pour l'appétibilité, qui soient beaucoup plus faciles à appliquer sur des pépinières de 10 000 plantes isolées que l'utilisation de troupeaux. Pour cela, pendant plusieurs années, nous avons observé de nombreux caractères sur un ensemble de clones, juste avant de les offrir en pâture à des ovins, avec libre choix. Ces observations ont été ensuite complétées et confirmées avec des bovins et sur des parcelles à densité normale de végétation.

L'appétibilité nous est apparue, à la suite de ce travail, comme un caractère complexe dont le principal déterminant est la *flexibilité du feuillage* (GILLET et JADAS-HÉCART, 1965). Un autre élément, qui n'intervient qu'en été, est l'aptitude des feuilles à rester vertes en période sèche.

Parallèlement nous commencions une sélection sur la flexibilité du feuillage, et une étude sur son *héritabilité*. Cette dernière s'est avérée très élevée (GILLET et JADAS-HÉCART, 1965). Ce travail a abouti en 1971 à l'inscription de la variété « Ludelle ».

Dès l'époque et depuis, des études ont été entreprises *avec des animaux* sur la *valeur* de cette variété : *le but de cet article est de présenter les résultats de ces études.*

## I. — Valeur de « Ludelle » pour les animaux

Pour confirmer rapidement l'appétibilité de « Ludelle », nous avons d'abord noté à l'œil la consommation de vaches laitières pâturant des essais en petites parcelles.

On peut faire trois reproches à ce système :

— il est subjectif;

— il donne le choix aux animaux, ce qui n'est pas le cas dans la pratique;

— il ne donne aucune idée de l'importance concrète des différences.

C'est pourquoi, lorsque les quantités de semences disponibles ont été suffisantes, des études de quantités ingérées ont été entreprises avec des moutons selon les techniques classiques utilisées en zootechnie (cages individuelles, distribution *ad-libitum*, etc.).

Ce dernier travail a permis également une étude de la *digestibilité de la matière organique*. On sait que cette caractéristique est liée à la *valeur énergétique* du fourrage, par une simple transformation mathématique.

Il fut alors possible de calculer les *quantités de matière sèche digestible ingérées*, ce qui donne le bilan de la valeur alimentaire des variétés.

La valeur azotée des fétuques élevées étant en général suffisante celle de « Ludelle » ne fut pas étudiée.

## 1. — *Notations à l'œil en pâture*

### *Matériel et méthodes*

Deux essais ont été établis en 1966 avec « Clarine », « Ludion » et « Ludelle », dont les précocités d'épiaison sont proches et se classent dans cet ordre. On sait que la présence de tiges avancées diminue beaucoup l'appétibilité d'une graminée.

Les deux essais différaient par le niveau de fumure azotée :

N1 : 20 à 30 unités/ha par coupe, plus 30 en février,

N2 : doses doubles de N1 à chaque apport.

Les parcelles élémentaires étaient de 50 mètres carrés.

Un troupeau de vaches laitières était mis à intervalles réguliers sur chaque essai pendant une journée.

Au moment où environ la moitié de l'herbe présente était consommée, une notation d'appétibilité était faite indépendamment par deux expérimentateurs ne possédant pas le plan de l'essai, puis on faisait la moyenne. Une parcelle non consommée recevait la note 0, une parcelle entièrement consommée recevait la note 5.

### *Résultats* (tableau I)

Pour les deux premières coupes de chaque année, les différences de précocité risquaient de perturber les classements d'appétibilité. Nous avons donc présenté tous les résultats (1*a* et 1*b*). Pour les autres coupes (feuillues) nous avons fait les moyennes par mois ou groupes de mois, des notes obtenues (1*c*). Elles se classaient en effet de façon très homogène.

*Premières coupes* (tableau 1*a*)

« Ludelle » est nettement la mieux consommée. Cette différence pourrait être attribuée, non à son appétibilité, mais à sa tardiveté, ses tiges étant alors moins avancées que celles des autres variétés. Nous pensons cependant qu'à cette époque, les tiges ne sont pas encore assez lignifiées pour influencer la consommation, et que l'on a bien observé des différences d'appétibilité.

*Secondes coupes reépiées* (tableau 1*b*)

Si les secondes coupes étaient reépiées, c'est que des épis avaient échappé à la première coupe. Comme celle-ci avait eu lieu à la même date pour les trois variétés, les plus précoces d'entre elles avaient eu davantage d'épis coupés que les autres : il leur en restait moins lors de la seconde coupe. Ceci était net en 1967, et encore bien plus en 1968, « Clarine » n'ayant plus guère que des feuilles. En 1967, les épis commençaient juste à sortir lors de la seconde coupe. « Ludelle », malgré sa plus grande richesse en tiges, fut la mieux consommée. En 1968, l'épiaison était si avancée que ce facteur devint primordial : « Clarine », très feuillue, fut la mieux consommée. Néanmoins, l'appétibilité de « Ludelle » fut comparable à celle de « Ludion », pourtant plus riche en feuilles.

TABLEAU 1

*Notes d'appétibilité de 3 variétés tardives de fétuque élevée à 2 doses d'azote* (N1 *et* N2).
*Les variétés sont classées par ordre de précocité décroissante.*

0 = non consommée
5 = entièrement consommée

1a : *Premières coupes*

| | N1 | | N2 | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 12/4/67 (1) | 24/4/68 (2) | 6/4/67 (1) | 29/4/68 (2) | 6/5/69 (3) |
| « Clarine » . . . . . | 2° | 1,50 | 2° | 1,62 | 1,00 |
| « Ludion » . . . . . | 2° | 0,87 | 2° | 1,75 | 1,00 |
| « Ludelle » . . . . . | 1° | 2,50 | 1° | 2,50 | 1,75 |

(1) Pas de note : simple classement; stade « épi à 10 cm » non atteint.
(2) Stade « épi à 10 cm » dépassé pour « Clarine » et « Ludion », non atteint pour « Ludelle ».
(3) « Clarine » proche de l'épiaison, « Ludelle » au stade « épi à 10 cm ».

1 b : *Secondes coupes réépiées*

| | N1 | | N2 | |
|---|---|---|---|---|
| | 17/5/67 (4) | 29/5/68 (5) | 12/5/67 (4) | 5/6/68 (5) |
| « Clarine » . . . . . | 2,75 | 1,87 | 0 | 2,12 |
| « Ludion » . . . . . | 1,50 | 0,37 | 0 | 1,00 |
| « Ludelle ». . . . . | 3,75 | 0,37 | 2,00 | 2,12 |

(4) Début réépiaison. Densité de tiges maximum chez « Ludelle », minimum chez « Clarine ».
(5) Réépiaison très avancée. Beaucoup de tiges chez « Ludelle », moins chez « Ludion », peu chez « Clarine ».

1 c : *Repousses feuillues*

| | Juin (2 coupes) | Juillet-août (4 coupes) | Septembre-octobre (5 coupes) | Moyenne générale (11 coupes) |
|---|---|---|---|---|
| « Clarine » . . . . . | 1,75 | 2,50 | 1,87 | 2,08 |
| « Ludion » . . . . . | 2,06 | 2,50 | 2,67 | 2,13 |
| « Ludelle ». . . . . . | 2,12 | 2,62 | 3,02 | 2,72 |

*Repousses feuillues* (tableau 1c)

« Ludelle » est toujours en tête. En juillet-août, elle est pratiquement rejointe par « Clarine », variété qui reste très verte en période sèche. Mais « Clarine », à feuilles très rigides, est très mal consommée les autres mois.

## 2. — *Études sur moutons en cages*

### *Matériel et méthodes*

Les variétés « Ludelle », « Clarine », et « Ludion » ont été comparées au C.R.Z.V. de Theix au cycle reproducteur (1) en 1968 et 1969, mais les résultats de 1969 ont été éliminés à cause d'une trop forte proportion d'adventices (souvent plus de 20 p. 100).

Les variétés « Ludelle » et « Clarine » furent comparées à une espèce d'excellente valeur alimentaire, le Ray-grass d'Italie (var. « Tiara »), à la Station d'Amélioration des Plantes fourragères de Lusignan, en 1973 et 1974. Ces variétés furent étudiées au cours du cycle reproducteur, puis lors de repousses de 5 à 7 semaines après une première coupe de mi-mai. Ces repousses, entièrement feuillues pour les fétuques, étaient réépiées pour le ray-grass.

Les quantités ingérées étaient étudiées sur 6 moutons par variété, dont 4 permettaient également l'étude de la digestibilité.

### *Résultats* (Planche I)

*Quantités ingérées*

Ces résultats confirment la meilleure consommation de « Ludelle » par rapport aux autres fétuques élevées, en particulier « Clarine », avec une seule exception : au cycle reproducteur en 1973, où il n'y eut pratiquement pas de différences, mais cette année-là, le ray-grass d'Italie lui-même ne se distingua pratiquement pas des fétuques élevées : visiblement la consommation était limitée par d'autres facteurs que le végétal.

Au cycle reproducteur, en 1974, il est intéressant de noter que la consommation de « Ludelle », avec 68,2 grammes par kilogramme de poids métabolique et par jour, est plus proche de celle du ray-grass (71,9 g) que de celle de « Clarine » (61,9).

Aux repousses âgées, le ray-grass est moins bien consommé que « Clarine » elle-même : il fut impossible de le distribuer aux animaux à la septième semaine en 1973, sa qualité étant trop mauvaise. Ceci s'explique par la réépiaison des repousses de ray-grass.

*Digestibilité*

« Ludelle » est inférieure à « Ludion » au printemps 1968 à Theix, mais toujours supérieure à « Clarine » au cycle reproducteur. Avec 70,6 points en moyenne pendant la période 1973 et 1974, « Ludelle » est plus proche du ray-grass (72,5 points) que de « Clarine » (68,0 points).

Lors des repousses, la supériorité des fétuques élevées, feuillues, sur les ray-grass, réépiés, est encore bien plus nette pour la digestibilité que pour les quantités

(1) appelé souvent en France « premier cycle ».

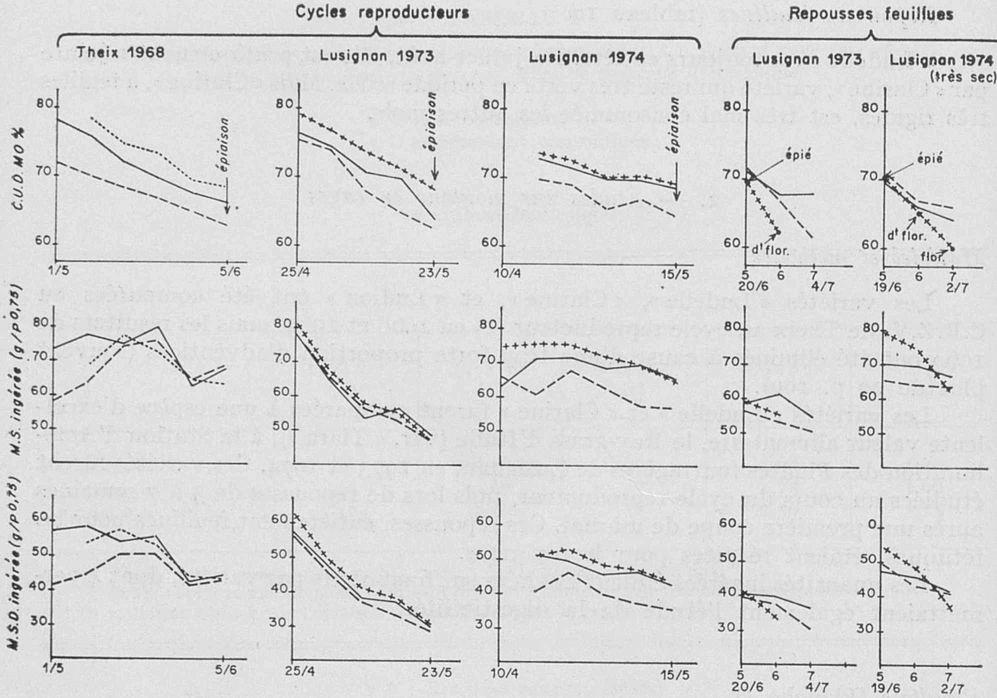



PLANCHE I : *Valeur alimentaire des variétés de fétuque élevée*

C.U.D.M.O. = Coefficient d'Utilisation Digestive de la Matière Organique
M.S. ingérée (g /$P^{0,75}$) = Matière Sèche ingérée en gramme par kilo de poids métabolique des animaux.
M.S.D. ingérée (g /$P^{0,75}$) = Matière Sèche Digestible ingérée, en gramme par kilo de poids métabolique.

ingérées. La digestibilité de « Ludelle » diminue moins avec l'âge que celle de « Clarine » en 1973, mais elle lui est inférieure en 1974. Cette année-là, juin et juillet ont été très secs, et les feuilles de « Clarine » sont restées plus vertes. On sait que « Ludion » a des feuilles encore bien plus sèches que celles de « Ludelle » dans ces conditions.

La digestibilité n'avait pas été spécialement un objectif de sélection de « Ludelle ».

*Matière sèche digestible ingérée*

« Ludelle » est toujours en tête des fétuques élevées. Elle est rejointe une fois par « Ludion », une fois par « Clarine ». Elle est plus proche du ray-grass d'Italie que de « Clarine » au cycle reproducteur.

## 3. — *Conclusions*

Ces résultats semblent suffire à montrer que *la sélection des fétuques élevées pour la valeur alimentaire est possible et efficace.*

## II. — Renseignements complémentaires

### 1. — *Rendement fourrages*

Un bilan a été fait à partir des résultats de nombreux essais entre 1967 et 1975 dans diverses régions de France. Il sera publié en détail ailleurs (1). La conclusion en est que « Ludelle » a un rendement annuel inférieur de 5 p. 100 à la meilleure productrice des autres variétés tardives, « Clarine ». « Ludelle » est égale à « Clarine » en juillet, mais elle possède un départ un peu plus tardif au printemps, et sa végétation se ralentit un peu plus de juillet à novembre.

Contrairement à « Ludion », « Ludelle » n'est pas sensible à la sécheresse. Il faut néanmoins signaler que ceci est dû à une croissance accélérée de jeunes organes, qui compense un certain dessèchement des vieilles feuilles, donnant à « Ludelle » un aspect moins vert que « Clarine » en été sec, et ramenant leur valeur alimentaire à un niveau momentanément comparable.

### 2. — *Production de semences*

« Ludelle » est très déficiente du point de vue de sa production de semences. En parcelles expérimentales elle a pu produire jusqu'à 9 quintaux par hectare mais, même alors, son potentiel était la moitié de celui de « Ludion », variété bonne grainière. Chez les agriculteurs-multiplicateurs, elle produit jusqu'ici entre 2 et 4 quintaux par hectares.

## III. — Perspectives

Il y a dix ans, le monde agricole n'était pas sensibilisé à l'intensification fourragère : le problème était trop complexe, le principal facteur limitant était la nourriture hivernale des animaux, et l'ensilage, technique indispensable à la bonne utilisation de l'herbe, n'était pas au point.

L'extension de l'ensilage de Maïs, facile à réussir, a réglé le problème de l'hiver : l'herbe, nourriture essentielle des troupeaux pendant la saison de végétation, est devenue la principale préoccupation. L'ensilage étant enfin mis au point, les agriculteurs ont été sensibilisés à cette technique, d'autant plus qu'ils s'étaient équipés pour le Maïs. Tout cela les a tout naturellement orientés vers la culture des graminées.

Ils se sont tournés d'abord vers l'espèce la plus facile à implanter et à utiliser : le Ray-grass d'Italie. Mais cette espèce est annuelle et son alternance avec le Maïs créé des pointes de travail très lourdes; par ailleurs elle produit mal l'été. Aussi, les agriculteurs souhaitent-ils de plus en plus remplacer une part de leur ray-grass par une espèce pérenne à production estivale correcte. Une Fétuque élevée tardive à valeur alimentaire améliorée devrait répondre à ce désir.

Cependant, l'incidence du faible rendement en semence de « Ludelle » sur son prix tend à décourager les établissements multiplicateurs de la produire : on n'en trouve encore très peu sur le marché. Cependant un net courant se dessine chez les

(1) C.R. Activité Fourrages interstations I.N.R.A. 1972-75, à paraître aux Éditions I.N.R.A. S.E.I. Versailles.

agriculteurs, prêts à la payer un prix plus élevé. Il est donc possible que sa production augmente.

De toutes façons, l'inscription de « Ludelle » au Catalogue aura démontré la possibilité d'améliorer la valeur alimentaire des fétuques élevées.

Continuant dans cette voie, nous travaillons à créer d'autres variétés possédant des qualités améliorées et une production de semences plus acceptables. L'une d'entre elles, en instance d'inscription au Catalogue, allie une flexibilité des feuilles égale à celle de « Ludelle », à un aspect vert l'été égal à celui de « Clarine ».

Il est donc raisonnable de penser que la sélection de fétuques élevées plus faciles à utiliser amènera cette espèce à remplacer à terme une partie non négligeable des surfaces de ray-grass d'Italie.

*Reçu pour publication en septembre 1976.*

## Remerciements

Nous tenons à remercier tous les expérimentateurs qui nous ont fourni les résultats de leurs expériences sur les variétés « Ludelle », « Clarine », et « Ludion », et en particulier M. NIQUEUX, Directeur de la Station d'Amélioration des Plantes de Clermont-Ferrand, qui a bien voulu nous communiquer la synthèse qu'il avait faite des résultats de sa Station, et M. DEMARQUILLY, qui nous a fourni les résultats de son étude sur moutons au C.R.Z.V. de Theix.

## Summary

*Evaluation of the first tall Fescue cultivar registred on the French List, selected for feeding value*

Tall fescue may be expected to replace italian ryegrass for an important acreage provided its main disadvantage is overcome, i.e. unpalatability. The cultivar « Ludelle » has been selected for this purpose. Its nutritive value has been studied, and its forage and seed yields are summarized.

*Eye-Scores on grazed trials* (table I)

« Ludelle » has always been the most palatable variety, except on 29/5/68 when it had advanced panicles, whereas « Clarine » was vegetative, for its apices had been removed at the first cut. « Clarine » is as palatable as « Ludelle » in dry summers, because its leaves remain green, but « Clarine » is unpalatable in other seasons.

*Studies with sheep* (plate I)

The intake of digestible dry matter of « Ludelle » is nearer to that of an italian ryegrass than to that of « Clarine ».

*Forage yield :* « Ludelle » yields 5 p. 100 less than the best yielding variety, « Clarine ». It is drought resistant but its leaves become partly yellow when the weather is dry.

*Seed yield :* « Ludelle » has a low seed yield.

*Conclusion :* The selection of tall fescue for nutritive value appears to be possible and efficient.

## Références bibliographiques

GILLET M. et JADAS-HÉCART J., 1965. Leaf flexibility, a character for selection of tall fescue for palatability. 9*th Internat. Grassld. Congr.*, Sao Paulo, 155-157.

GILLET M., 1973. La fétuque élevée, ses possibilités dans l'Ouest. *Bull. techn. Inform.*, **281**, 513-518.

GILLET M., 1975. La sélection pour la facilité d'utilisation chez les fétuques élevées et les dactyles. *Fourrages*, **64**, 11-17.

JADAS-HÉCART J. et GILLET M., 1969. Some selection criteria for quality in tall fescue and cocksfoot. *Eucarpia Fodder Crops Section, Aberystwyth*, 73-77.

JADAS-HÉCART J. et GILLET M., 1975. La fétuque élevée et ses variétés. *Fourrages*, **64**, 151-157.

PLANQUAERT Ph., 1972. Comparaison de plantes fourragères annuelles utilisées comme plantes abris pour une fétuque élevée. Document interne ITCF, 23 p.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27**, (3), 341-354.

# Quantitative analysis of fertility in Lucerne at different levels of selfing ([1])

P. ROTILI and L. ZANNONE

*Istituto Sperimentale per le Colture Foraggere — Lodi, Italia*

## Summary

The breeding program on Lucerne realized at the Institute of Forage Crops of Lodi included two phases: selfing (4 generations) and hybridization. Several characters were studied; among these, the fertility was measured by the number of seeds per pod, with the following results.

1. The self-fertility of the parental clones decreased on average with the increasing level of selfing. The greatest decrease occurred between the $S_1$ and $S_2$ levels.

2. The cross-fertility of the parental clones was studied in diallel crosses among 8 clones at each level of selfing. The cross fertility of each clone decreased with the increasing level of inbreeding. The " general ability to give seeds " was significant at the levels of inbreeding $S_0$, $S_1$ and $S_2$.

3. The cross-fertility of single crosses was studied in diallel crosses among 5 single crosses at each level of selfing. The cross fertility of each single cross decreased with the increasing level of inbreeding. Both " general ability to give seed " and " maternal effects " were significant at all levels of inbreeding. The " maternal effects " resulted more important than the " general ability to give seed ".

## Introduction

The breeding program on Lucerne realized at the Institute for Fodder Crops in Lodi, included the following characters: forage yield, number of stems, plant height, earliness, mortality and fertility. This paper concerns the data on fertility only, because those concerning the other characters have been already published (ROTILI, 1970 *a* et *b*, 1976, 1977; ROTILI and ZANNONE, 1974, 1976).

Data are presented on self-fertility of the parental clones and on cross-fertility of parental clones and single crosses. The following topics will be discussed:

1. The performance of self-fertility during the first four levels of selfing when selection was practised for plant vigor only.

([1]) This work was supported by funds from the Italian Research Council (CNR).

2. The compatibility between the cross fertility of the clones and the single crosses and the use of selfing in a breeding program; in particular, the role of cross-fertility in the choice of the variety model.

## Material and methods

Two parental populations which differed in origin and adaptation were used for this breeding program. They were the cultivars « Florida » and « Friulana ». Within each cultivar, selection was practised for plant vigor at both ends of their distribution curves. Within each cultivar, plants with dry matter weight less than the mean were designated as group A and plants exceeding the mean by two standard deviations were designated as group B. The resulting groups were inbred by selfing for four generations.

Intense positive selection for vigor was practised in all groups after each generation of selfing, i.e., within each line only plants exceeding the mean by two standard deviations were chosen (Rotili 1970 *a* et *b*, 1976).

The fertility was studied only on the plants of the B group. Within this group, five diallel crosses among 8 clones and four diallel crosses among 5 single crosses were studied (Table 1). Both self-fertility and cross-fertility were estimated by the pod fertility (number of seeds per pod). Besides the number of seeds per pod, other indexes should be used, such as the percentage of pod setting per tripped flowers (Dattée, 1972; Gray *et al.*, 1969), or the number of seeds per tripped flowers (Aycock and Wilsie, 1967; Busbice, 1968; Haaland *et al.*, 1975).

TABLE 1

*Clones used for self- and cross-pollination study*

| Clones | Levels of selfing | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | $S_0$ | $S_1$ | $S_2$ | $S_3$ | $S_4$ |
| 127 A « Florida » . . | o+ | o | o+ | o+ | o+ |
| 633 B « Florida » . | o+ | o | o+ | o+ | o+ |
| 1171 C « Florida » . | o+ | o | o+ | o+ | o+ |
| 1497 D « Florida » . | | o | o+ | o+ | o+ |
| 649 E « Friulana » . | o+ | o | o+ | o+ | o+ |
| 652 F « Friulana » . | | o | o+ | o+ | o+ |
| 940 G « Friulana » . | | o | o+ | o+ | o+ |
| 1836 H « Friulana » . | o+ | o | o+ | o+ | o+ |
| 719 P « Florida » . | o+ | | | | |
| 1678 Q « Florida » . | + | | + | + | + |
| 259 R « Friulana » . | o+ | | | | |
| 301 S « Friulana » . | + | | + | + | |
| 453 T « Friulana » . | | | | | + |
| 1169 U « Friulana » . | o+ | | | | |

o clones entering in the diallel crosses among 8 clones.
\+ clones entering in the diallel crosses among 5 single crosses.

All these indexes have the same precision and they are correlated two by two; the percentage of pod setting is the simplest to be detected, and it allows the comparison of individual performances in different environment. In the case of self-fertility, there is a great variation in the pod setting, while the number of seeds per pod is low and not very variable; on the contrary, in the case of cross-fertility, there is a greater variation in the number of seeds per pod than in the percentage of pod setting; so, the pod setting is considered the best index for self-fertility, while the pod fertility is considered the best one for cross-fertility (DATTÉE, 1972). We had at our disposal all the three indexes only for the $S_3$ plants. So, both self- and cross-fertility were estimated by the number of seeds per pod only.

### 1. — *Self-fertility of the clones*

The data concern the clones reported in Table 1. The self-pollination was realized in field and under a shed. In this last case, the plants were grown in pot. The tripping was obtained by means of a toothpick. The selfed plants were covered by a gauze bag beared by an iron support with a boundary ring.

### 2. — *Cross-fertility*

All the crosses were made by hand, in greenhouse, without emasculation.

a) *Clones.*

The pod fertility was registered for a diallel cross among 8 clones at each level of selfing. (Table 1). To insure the highest percentage of cross seeds, a great amount of pollen was used (BONCIARELLI, 1960; DEMARLY, 1963); the pollen was collected on 10 flowers of the male parent and transferred to one flower of the female parent. Such procedure was repeated several times to obtain at least 100 pods per cross.

The data were submitted to the analysis of variance according to GRIFFING's method IV, model I (GRIFFING, 1956). The parameters have here a different meaning than in a diallel cross, because the data concern the mother plants and not their progenies. So, the general ability represents an average ability to give seeds either as female or as male parent, indifferently. The specific ability represents here, in absence of replications, the error variance, including the specific ability to give seeds.

b) *Single crosses.*

The pod fertility was studied in a diallel cross among 5 single crosses for each of the levels of selfing $S_0$, $S_2$, $S_3$ and $S_4$ (Table 1). The diallel cross scheme included the reciprocals.

Each single cross was represented by 5 plants selected at random in a population of 40 plants. Pollen was collected on each of the 5 plants (two flowers per plant) of the first parental single cross and transferred to one flower of the first plant of the second parental single cross; again, pollen collected on each of the 5 plants (two flowers per plant) was transferred to one flower of the second plant of the partner, and so on, for all the partners. The cross fertility was studied on a basis of at least 100 pods for each entry.

The analysis of the variance was made according to the GRIFFING's Method III, Model I (GRIFFING, 1956), modified according to the HAYMAN's model (HAYMAN, 1954). By this analysis the following sources of variation can be distinguished:

(*a*) general ability to give seed,

(*b*) specific ability to give seed,

(*c*) differential effect (maternal effect),

(*d*) specific differential effect.

Both female (α) and male (β) effects were likewise calculated.

## Results

### 1. — *Self-fertility of the parental clones*

The correlation between the two measurements (plants grown in field and under shed respectively) was consistent (0.931*) only for the $S_1$ level. Such differences between the two measurements reveal the existence of interaction between genotype and environment (DATTÉE, 1972; HAALAND *et al.*, 1975). Only the data of field are considered here. The self-fertility of the parental clones (Table 2) decreased on average from $S_0$ up to $S_3$ level of selfing but increased again in $S_4$. The greatest decrease occurred between $S_1$ and $S_2$ level. The decrease was statistically significant (P = 0.01) from $S_0$ to $S_2$ but not from $S_2$ forwards. The variance among the parental clones within each level of selfing decreased too.

TABLE 2

*Self-fertility of clones (seeds per pod)*

| Clones | Levels of selfing | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | $S_0$ | $S_1$ | $S_2$ | $S_3$ | $S_4$ |
| A 127 « Florida » | 1.84 | 1.81 | 0.93 | 1.11 | 1.30 |
| B 633 « Florida » | 1.11 | 1.31 | 0.92 | 0.51 | 1.24 |
| C 1171 « Florida » | 3.00 | 1.18 | 0.69 | 0.73 | 1.00 |
| D 1497 « Florida » | | 1.43 | 0.82 | 1.05 | 1.26 |
| E 649 « Friulana » | 0.96 | 1.19 | 0.73 | 0.77 | 1.19 |
| F 652 « Friulana » | | 1.72 | 0.94 | 0.70 | 1.00 |
| G 940 « Friulana » | | 1.45 | 1.16 | 1.12 | 1.35 |
| H 1836 « Friulana » | 1.16 | 1.63 | 1.05 | 1.00 | 1.03 |
| P 719 « Florida » | 2.88 | 1.21 | 0.60 | | |
| Q 1678 « Florida » | | 0.76 | 0.79 | 0.55 | |
| R 259 « Friulana » | 1.79 | 1.06 | 1.05 | | |
| S 301 « Friulana » | | 1.66 | 0.83 | | |
| T 453 « Friulana » | | 1.62 | 1.42 | 1.13 | |
| U 1169 « Friulana » | 2.06 | 1.65 | 1.48 | | |
| Mean | 1.85 | 1.40 | 0.95 | 0.86 | 1.17 |
| Standard deviation | 0.77 | 0.29 | 0.25 | 0.24 | 0.14 |

No correspondence was observed between the ranks of the parental clones at the different levels of selfing.

For the $S_3$ level, we had at our disposal the other two indexes of self-fertility usually used by authors, namely the percentage of pod setting per tripped flower and the number of seeds per tripped flowers. Both these indexes showed a coefficient of variability higher than the number of seeds per pod, in agreement with results of other authors (DATTÉE, 1972).

For a more complete information on the fertility in lucerne during the selfing phase, data on self-sterility should be helpful; our data showed that in $S_3$ out of 285 vigorous plants (group B) 20 p. 100 were quite self-sterile and 58 p. 100 showed less than 30 seeds on 500 flowers (Table 3); in $S_2$, the percentage of the completely or highly self-sterile plants was only 38 p. 100.

TABLE 3

*$S_3$ plant distribution for self-fertility* (*)

| Populations | Classes of self-fertility | | | | Total of plants |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0.0 | ⩽ 0.05 | < 0.10 | ⩾ 0.10 | |
| « Florida » . . . . . | 26 | 97 | 16 | 27 | 166 |
| « Friulana » . . . . . | 31 | 69 | 10 | 9 | 119 |
| Total Nr = | 57 | 166 | 26 | 36 | 285 |
| % = | 20 | 58 | 9 | 13 | 100 |

(*) Number of seeds per flower tripped.

## 2. — *Cross fertility*

a) *Parental clones.*

The cross fertility of the parental clones is reported in Table 4. The average values decreased with the increasing levels of the parental inbreeding. The maximum of decrease occurred between $S_1$ and $S_2$ levels. The decrease was statistically (P = 0.01) significant from $S_0$ to $S_3$ but not from $S_3$ to $S_4$ level. The variation among the parental clones decreased too; in $S_3$ and $S_4$ all the means are practically the same. Here again, as for the self-fertility, there is only a rough correspondence between the ranks of the different levels of parental inbreeding, unless for the extreme values of the ranks.

The mean squares of general and specific abilities to give seed are reported in Table 5. Both general and specific ability decreased with the increasing level of parental inbreeding. In absence of replications, the general ability was tested against the specific ability, representing here the error including the specific ability to give seed. The general ability was significantly greater than the specific ability at every level of parental inbreeding, excepted the $S_4$ level, at which the general ability value was lower than the specific ability value.

In absence of reciprocal crosses for each pair of parental clones it was not possible to estimate the female and male parent effects for each clone. Never-

TABLE 4

*Number of seeds per pod in clones cross-pollinated by clones*

| Level of inbreeding | $S_0 \times S_0$ | | | $S_1 \times S_1$ | | | $S_2 \times S_2$ | | | $S_3 \times S_3$ | | | $S_4 \times S_4$ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Clones | ♀ | ♂ | mean | ♀ | ♂ | mean | ♀ | ♂ | mean | ♀ | ♂ | mean | ♀ | ♂ | mean |
| A 127 « Florida » | 6.68 | 4.63 | 5.65 | 6.55 | — | | 5.76 | 4.27 | 5.01 | 2.80 | 2.96 | 2.88 | 2.85 | 2.43 | 2.64 |
| B 633 « Florida » | 5.38 | 5.71 | 5.54 | 5.57 | 5.68 | 5.62 | 3.84 | 4.77 | 4.30 | 3.47 | 2.53 | 3.00 | 2.38 | 1.77 | 2.07 |
| C 1171 « Florida » | 6.89 | 6.35 | 6.62 | 5.23 | 6.49 | 5.86 | 4.34 | 4.03 | 4.18 | — | 2.94 | | 2.33 | 2.83 | 2.58 |
| D 1497 « Florida » | | | | 5.52 | 4.80 | 5.16 | 2.21 | 3.41 | 2.81 | 2.83 | 3.00 | 2.91 | 2.04 | 2.23 | 2.13 |
| E 649 « Friulana » | 5.16 | 7.90 | 6.53 | 4.59 | 5.58 | 5.08 | 3.26 | 3.87 | 3.56 | 2.28 | 3.74 | 3.01 | 1.92 | 2.45 | 2.18 |
| F 652 « Friulana » | | | | 6.54 | 6.13 | 6.33 | 4.40 | 4.34 | 4.37 | 3.30 | — | | 2.66 | 2.80 | 2.73 |
| G 940 « Friulana » | | | | 4.92 | 6.27 | 5.59 | 3.80 | 3.93 | 3.86 | 2.68 | 3.41 | 3.04 | 2.34 | 2.74 | 2.54 |
| H 1836 « Friulana » | 5.24 | 5.32 | 5.28 | 5.88 | 5.35 | 5.61 | 4.44 | 3.90 | 4.17 | 3.72 | 3.21 | 3.46 | 2.93 | 2.32 | 2.62 |
| P 719 « Florida » | 6.84 | — | | | | | | | | | | | | | |
| R 259 « Friulana » | 9.00 | 6.98 | 7.99 | | | | | | | | | | | | |
| U 1169 « Friulana » | 9.05 | 7.33 | 8.19 | | | | | | | | | | | | |
| Mean | 6.78 | 6.31 | 6.54 | 5.60 | 5.75 | 5.60 | 4.00 | 4.06 | 4.03 | 3.01 | 3.11 | 3.05 | 2.43 | 2.44 | 2.43 |
| Standard deviation | 1.56 | 1.16 | 1.16 | 0.70 | 0.58 | 0.42 | 1.02 | 0.40 | 0.64 | 0.50 | 0.38 | 0.21 | 0.36 | 0.35 | 0.26 |

TABLE 5

*Analysis of variance in diallel crosses among clones for seeds per pod*

G.A. = General ability to give seed
S.A. = Specific ability to give seed

| Sources of variation | Degree of freedom | Generation of inbreeding | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | $S_0 \times S_0$ | $S_1 \times S_1$ | $S_2 \times S_2$ | $S_4 \times S_4$ |
| G.A. . . . . . . . . | 7 | 8.12 | 1.84 | 3.74 | 0.41 |
| S.A. . . . . . . . . | 20 | 2.46 | 0.62 | 0.95 | 0.52 |
| | $F_{(7, 20)}$ | 3.30* | 2.96* | 3.93** | |

(*), (**) Significant at the 5 p. 100 and 1 p. 100 levels, respectively.

theless, we compared the mean value of each clone when taken as female parent with its mean value when taken as male parent (see Tab. 4). Such mean values had not all the same precision being derived from different number of crosses, but they gave however a good information. The female parent values are generally more variable than the male parent values. The ranks of the female parent values are generally in a good agreement with those of the average values.

The correlation between the self-fertility of each clone and its cross-fertility when it is taken as female parent, was calculated for each level of parental inbreeding. The coefficients of correlation were 0.47 for $S_0$, 0.86* for $S_1$, 0.24 for $S_2$ and — 0.20 for $S_3$. The high value found at the $S_1$ level is probably caused by the fact that the expression of the additive effects either for self- or for cross-fertility are at this level simultaneously maximized.

TABLE 6

*Number of seeds per pod in single crosses after cross-pollination with single crosses*

| Levels of parental inbreeding | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $S_0 \times S_0$ | | $S_2 \times S_2$ | | $S_3 \times S_3$ | | $S_4 \times S_4$ | |
| Crosses | Seeds / Pod | Crosses | Seeds / Pod | Crosses | Seeds / Pod | Crosses | Seeds / Pod |
| C × R | 7.27 | B × F | 6.13 | B × F | 5.50 | A × E | 5.21 |
| U × H | 7.05 | A × E | 6.05 | C × G | 5.49 | F × C | 5.17 |
| B × E | 7.00 | Q × S | 5.76 | E × A | 5.11 | B × G | 4.90 |
| P × A | 6.31 | G × D | 5.57 | H × D | 4.61 | Q × T | 4.38 |
| Q × S | 6.16 | H × C | 5.34 | Q × S | 4.52 | H × D | 4.33 |
| mean<br>st. dev. | 6.75<br>0.49 | mean<br>st. dev. | 5.77<br>0.32 | mean<br>st. dev. | 5.05<br>0.46 | mean<br>st. dev. | 4.80<br>0.42 |

TABLE 7

*Analysis of the variance in diallel crosses among single crosses for seeds per pod.*

*a* = general ability to give seed
*b* = specific ability to give seed
*c* = differential effects (maternal effects)
*d* = specific differential effects

| Sources of variation | Degrees of freedom | Generations of inbreeding | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | $S_0 \times S_0$ | $S_2 \times S_2$ | $S_3 \times S_3$ | $S_4 \times S_4$ |
| | | Mean squares | | | |
| *a* . . . . . . . . . . | 4 | 2.53** | 1.14* | 2.33** | 1.89** |
| *b* . . . . . . . . . . | 5 | 0.27 | 0.32 | 0.12 | 0.88** |
| *c* . . . . . . . . . . | 4 | 1.99** | 1.72** | 3.61** | 2.01** |
| *d* . . . . . . . . . . | 6 | 0.04 | 0.12 | 0.07 | 0.54 |
| Error . . . . . . . | 80 | 0.17 | 0.41 | 0.20 | 0.20 |

(*), **) Significant at the 5 p. 100 and 1 p. 100 levels.

TABLE 8

*Estimated* $g_i$, $\alpha$ *and* $\beta$ *effects for seeds per pod in single crosses*

| Level of selfing | Crosses | $g_i$ | $\alpha$ | $\beta$ |
|---|---|---|---|---|
| $S_0 \times S_0$ . . . . . . . . | C × R | 0.67 | 0.96 | 0.38 |
| | U × H | 0.38 | 0.98 | — 0.22 |
| | B × E | 0.32 | 0.25 | 0.38 |
| | P × A | — 0.59 | — 0.96 | — 0.22 |
| | Q × S | — 0.79 | — 1.24 | — 0.33 |
| $S_2 \times S_2$ . . . . . . . | B × F | 0.47 | 1.00 | — 0.05 |
| | A × E | 0.37 | 0.26 | 0.48 |
| | Q × S | 0.00 | — 0.61 | 0.59 |
| | G × D | — 0.26 | — 0.25 | — 0.27 |
| | H × C | — 0.57 | — 0.39 | — 0.74 |
| $S_3 \times S_3$ . . . . . . . | B × F | 0.60 | 1.33 | — 0.11 |
| | G × C | 0.59 | 0.74 | 0.44 |
| | E × A | 0.07 | — 0.25 | 0.41 |
| | H × D | — 0.58 | — 0.28 | — 0.87 |
| | Q × S | — 0.69 | — 1.53 | 0.13 |
| $S_4 \times S_4$ . . . . . . . | A × E | 0.54 | 0.61 | 0.47 |
| | F × C | 0.49 | 0.39 | 0.59 |
| | B × G | 0.14 | 0.86 | — 0.58 |
| | Q × T | — 0.55 | — 0.76 | — 0.34 |
| | H × D | — 0.62 | — 1.10 | — 0.15 |

b) *Single crosses*

The cross-fertility values of the single crosses are reported in Table 6 for the different levels of parental inbreeding. The general decrease of all the values from $S_0 \times S_0$ to $S_4 \times S_4$ is well evident. The greatest decrease occurred from the $S_0$ to the $S_2$ level. The decrease was statistically significant ($P = 0.01$) from $S_0$ to $S_3$ but not from $S_3$ to $S_4$.

The " general ability to give seed " was significant at all levels of inbreeding (Table 7). The same was observed for differential effects (maternal effects). At every level of parental inbreeding, the $S_0 \times S_0$ excepted, the maternal effects were more important than the general ability to give seed.

In Table 8 the single crosses are ranked according to their $g_i$ effects. Besides, the $\alpha$ and $\beta$ effects, i.e. the female and male parent effects, are also reported. The $\alpha$ values show the same ranking of the $g_i$ values; the range of variation for the $\alpha$ values is greater than for the $\beta$ values. These results are in agreement with those observed for the clones (see Table 4), and with data of the literature as well (DATTÉE, 1972).

## Discussion and conclusions

In fig. 1 the results are grouped together to facilitate a synthesis of different responses of pod fertility in relation to the employed material. The self- and cross-fertility observed in this study were similar to those reported by other Authors (BUSBICE, 1968; DATTÉE, 1972, 1974; DESSUREAUX and GALLAIS, 1971). The material of the present study was obtained through selection for vigor during four generations of selfing. At the same time, all the vigorous plants showing a very low self-fertility were discarded for operative reasons; in other words, an indirect selection for self-fertility should be operated at some extent. Starting from the $S_3$, on the contrary, the high percentage of self-sterile plants made necessary, beside the selection for vigor, a direct selection for self-fertility as well. Such fact probably could explain the increase of self-fertility registered in $S_4$ relatively to $S_3$. At the same time the cross-fertility in $S_4$ is lower than in $S_3$. This fact suggest the hypothesis that the selection for self-fertility should not give an increase in cross-fertility, at least at levels of inbreeding over the $S_2$; this because the degree or heterozigosity of parental plants seems to play a predominant role in the pod-fertility determination.

After such statements, the following considerations can be made on the data just presented.

1) The high percentage of self-sterile clones at the $S_3$ level conditions the use of selfing in a breeding program. In fact, the vigorous plants reacted positively to selection for vigor until the $S_2$ level. In the succeeding generations further progress in accumulation of favourable genes and gene combinations appeared to stop in most plants (ROTILI, 1976). For this reason, it becomes very difficult to select plants having both a good concentration of favourable genes for vigor and a good self-fertility as well. Several solutions can be used to overcome these limits. In any case a certain degree of heterozigosity should be reconstituted by crossing. After that, selfing and selection could be made again.

2) The general ability to give seeds was in the clones greater than the specific ability, at every level of selfing excepted the $S_4$ level. Thus, the greatest progress in cross-fertility of the clones will result from working with general ability

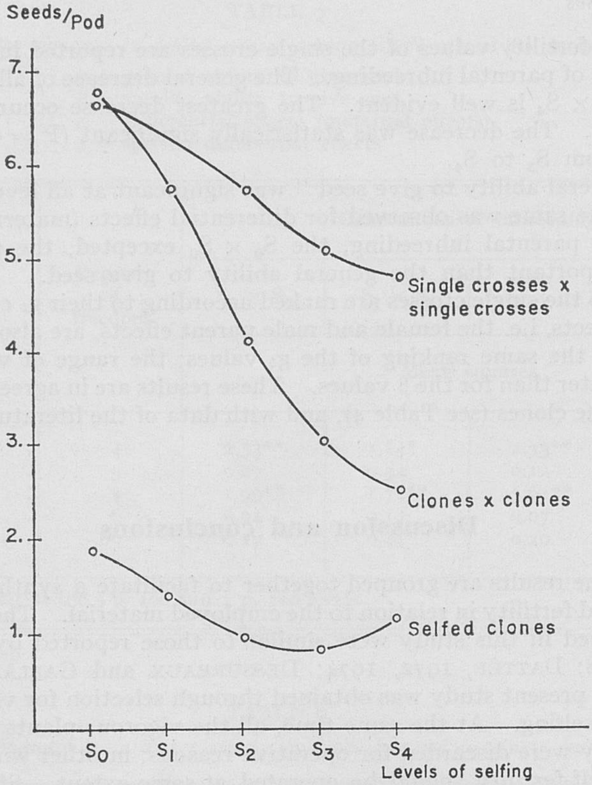



FIG. 1. — *Performance for pod fertility at different levels of selfing*

estimates. In addition, the ranks of the female parent values were in good agreement with those of the average values: such a result indicated that the female parents were prevailing in the determination of the average fertility of clones.

3) The average values of cross-fertility of the clones decreased with the increasing level of parental inbreeding, while these same clones produced single crosses families giving a forage yield, which increased with the degree of inbreeding (ROTILI, 1976). In other words, selfing and selection for vigor produced a positive effect for forage yield; at the same time, the effect for seed production was negative, because of the loss of heterozigosity produced by selfing.

4) Concerning the single crosses, at every level of inbreeding the maternal effects were more important than the general ability to give seed, the $S_0$ level excepted. As we have seen for the clones, for the single crosses as well, the female parents prevailed in the determination of the average fertility.

5) The cross fertility of the single crosses decreased from $S_0 \times S_0$ to $S_4 \times S_4$. On the contrary, the forage yield values increased with the level of selfing (ROTILI and ZANNONE, 1976). The same was observed for the cross-fertility of clones (see n.3).

6) The inbreeding effect on pod fertility is very important during the multiplication phase of synthetic cultivars, because it introduces a selection in favour of the cross-pollination descents. Such a mechanism is therefore added to the others in maintaining a high level of the population average heterozigosity.

From these results a question arises: how many generations of selfing have to be used in a breeding program? Concerning the forage yield, the selection of vigorous clones could continue positively also after the second generation, if suitable solutions are employed. On the contrary, concerning the seed production, the limit of a profitable use of selfing is related to the variety model used. For instance, for a 4-clone synthetic variety there are no difficulties when $S_2$ parental material is used. On the other side, if in order to exploit in a better way the hybrid vigor, a semi-hybrid variety is created by natural cross of two 2-clone synthetics, the use of mother plants with a $S_2$ level of inbreeding does not seem to be economically convenient. It is questionable if the advantage of 11 p. 100 of the semi-hybrid varieties over the 4-clone synthetics, found in our data (ROTILI and ZANNONE, 1976), should be sufficient to justify the increased cost involved in producing semi-hybrid seed. In fact, to obtain a good amount of seeds the 2-clone synthetic varieties have to be multiplied in isolation during 3-4 generations; in such a case, if $S_2$ parental plants will be employed, a sharp decrease in pod fertility and a certain degree of total sterility will be reached. On the basis of our results, obtained on forage yield and pod fertility, it is possible to say that the better solution seems to be a synthetic cultivar based on four selected $S_2$ plants.

*Reçu pour publication en juillet 1976.*


## Résumé

*Analyse quantitative de la fertilité de la Luzerne à divers niveaux d'inbreeding*

Les données présentées concernent la fertilité (nombre de graines par gousse) des clones et des hybrides simples étudiés dans le cadre du programme d'amélioration de la Luzerne conduit à Lodi depuis plusieurs années et portant sur les caractères suivants : rendement, nombre de tiges, hauteur, précocité et persistance. Des données relatives à ces caractères ont été déjà publiées (ROTILI, 1970 *a* et *b*, 1976, 1977; ROTILI et ZANNONE, 1974, 1976).

Les problèmes suivants sont discutés : performance de l'autofertilité des clones au cours de quatre générations d'autofécondation, la compatibilité entre l'interfertilité des clones et des hybrides simples et l'emploi de l'autofécondation dans un programme d'amélioration et, en particulier, le rôle de l'interfertilité dans le choix du modèle variétal. Deux populations de départ ont été utilisées (cv. « Florida » et « Friulana ») qui diffèrent quant à l'origine et à l'adaptation. Dans chaque population on a sélectionné pour la vigueur aux deux extrémités de la courbe de distribution, c'est-à-dire plantes faibles (groupe A $\leqslant \bar{x}$) et plantes très vigoureuses (groupe B $> \bar{x} + 2s$); les plantes choisies furent autofécondées pendant quatre générations. La description de la méthode de sélection a déjà été publiée (ROTILI, 1970 *a* et *b*, 1976). L'autofertilité, comme l'interfertilité ont été évaluées par la fertilité de la gousse (nombre de graines par gousse).

I. — *Autofertilité des clones* (Tabl. 2)

L'influence de l'autofécondation sur la moyenne est négative jusqu'en $S_3$; en $S_4$ on observe une fertilité moyenne plus grande qu'en $S_3$. La variabilité entre les clones diminue avec l'inbreeding. En $S_3$ à peu près 80 p. 100 des plantes est totalement ou presque autostérile (Tab. 3), tandis qu'en $S_2$ ce pourcentage est seulement de 38 p. 100.

2. — *Interfertilité*

a) *Clones*

La fertilité moyenne, comme la variabilité entre les clones diminuent avec l'inbreeding (Tab. 4). Les aptitudes générale et spécifique calculées suivant la méthode de Griffing, Méthode IV Modèle I, diminuent aussi, l'aptitude générale étant toujours beaucoup plus importante que l'aptitude spécifique jusqu'en $S_3$; en $S_4$ au contraire, elle est plus petite que l'aptitude spécifique (Tab. 5). L'effet de la plante femelle est plus important que celui du pollen dans la détermination de l'aptitude générale à produire de la graine (Tab. 4). La corrélation entre l'auto- et l'inter-fertilité est faible à tous les niveaux d'inbreeding, sauf en $S_1$ ($r = 0.86^*$).

b) *Hybrides simples*

La fertilité moyenne des hybrides simples diminue avec l'inbreeding (Tab. 6). L'aptitude générale à produire de la graine est toujours significative; les effets maternels sont toujours plus importants que l'aptitude générale, sauf en $S_0$ (Tab. 7). Les effets « plante femelle » sont plus importants que les effets pollen dans la détermination de la fertilité moyenne (Tab. 8).

3. — *Discussion et conclusions*

Une synthèse des différentes réponses de la fertilité de la gousse en relation avec le matériel employé est représentée dans la figure 1. Ce matériel dérivait d'une sélection pour la vigueur au cours de quatre générations d'autofécondation. En même temps, toutes les plantes vigoureuses qui présentaient une autofertilité très faible étaient éliminées pour des raisons pratiques; c'est-à-dire qu'une certaine sélection indirecte pour l'autofertilité a été opérée dans une certaine mesure. A partir de la $S_3$, au contraire, le pourcentage élevé de plantes autostériles rendait nécessaire, à côté de la sélection pour la vigueur, une sélection directe pour la fertilité. Cela pourrait expliquer l'augmentation d'autofertilité enregistrée en $S_4$ par rapport à la $S_3$.

Cette mise au point étant donnée, les considérations suivantes sont possibles :

*a*) Le pourcentage élevé de clones autostériles conditionne l'emploi de l'autofécondation dans un programme d'amélioration. En fait, les plantes vigoureuses réagissent positivement à la sélection jusqu'en $S_2$; aux générations suivantes, le progrès dans l'accumulation de gènes et combinaisons géniques favorables semble s'arrêter pour la plupart des plantes (Rotili, 1976.) Il devient difficile pour cette raison, de sélectionner des plantes consanguines ayant en même temps une bonne concentration de gènes favorables et une bonne autofertilité. Plusieurs solutions peuvent être utilisées pour franchir cette limite; en tout cas, un certain degré d'hétérozygotie peut être reconstitué par croisement, suivi par un nouveau cycle d'autofécondation et de sélection.

*b*) Les valeurs moyennes d'interfertilité des clones diminue avec le niveau d'inbreeding des parents; d'autre part, ces mêmes clones sont à l'origine de familles hybrides simples dont le rendement augmente avec le degré d'inbreeding (Rotili, 1976 *a*). C'est-à-dire que l'autofécondation et la sélection pour la vigueur produisent un effet positif sur la production fourragère tandis que, pour la production de graine, le résultat est négatif à cause de l'autofécondation. Il semble évident que le degré d'hétérozygotie des plantes parentales joue un rôle prédominant dans la détermination de la fertilité de la gousse.

*c*) L'interfertilité des hybrides simples diminue du niveau $S_0 \times S_0$ au niveau $S_4 \times S_4$, tandis que les rendements des hybrides simples augmentent avec le niveau d'inbreeding, comme on l'a déjà vu pour l'interfertilité des clones (voir *b*)).

Ces résultats nous amènent à poser la question suivante : combien de générations d'autofécondation faut-il utiliser dans un programme d'amélioration ? Pour le rendement, la sélection des clones vigoureux peut progresser positivement même après la deuxième génération, si des solutions appropriés sont adoptées. Pour la production de graine, au contraire, la limite de convenance pour l'emploi de l'autofécondation est en relation avec le modèle variétal employé. Pour une synthétique à quatre constituants, par exemple, il n'y a pas de difficultés quand on emploie des clones $S_2$. D'autre part, si pour exploiter au mieux la vigueur hybride on fabrique une variété semi-hybride par croisement naturel entre deux synthétiques, à base 2 on ne peut pas employer

avantageusement des plantes mères avec un niveau d'inbreeding $S_2$. Il faudrait savoir si le gain de rendement (11 p. 100 d'après nos données expérimentales) des variétés semi-hybrides par rapport aux synthétiques à base 4 correspondantes est suffisant (ROTILI et ZANNONE, 1976) pour justifier le coût plus élevé de la production commerciale de graine de première génération. En fait, pour obtenir une quantité de graine suffisante, les synthétiques à deux constituants devraient être multipliées en isolement pendant 3 à 4 générations; dans ce cas, si l'on emploie des plantes mères $S_2$, on aura une forte diminution de fertilité et un certain degré de stérilité totale, et pour cela la production commerciale de graine de première génération ne sera peut-être pas rentable.

## References


AYCOCK M. K. Jr. and WILSIE C. P., 1967. Inbreeding *Medicago sativa* L. by sib mating. I. Cross-sib and self-fertility., *Crop Sci.*, **7**, 281-284.

BONCIARELLI F., 1960. Su alcuni accorgimenti per ridurre il tasso di autogamia nell'erba medica. *Ann. Fac. agrar. Univ. Perugia*, **15**, 157-162.

BUSBICE T. H., 1968. Effects of inbreeding on fertility in *Medicago sativa* L. *Crop Sci.*, **8**, 231-234.

DATTÉE Y., 1972. Analyse quantitative de l'auto- et de l'interfertilité chez quelques familles de Luzerne. *Ann. Amélior. Plantes*, **22** (1), 5-21.

DATTÉE Y., 1974. Effet de l'apparentement sur la production de graines en croisement chez la Luzerne (*Medicago sativa* L.). *Ann. Amélior. Plantes*, **24** (1), 25-35.

DEMARLY Y., 1963. Génétique des tétraploïdes et amélioration des plantes. *Ann. Amélior. Plantes*, **13**, 307-408.

DESSUREAUX L. and GALLAIS A., 1971. Evolution of fertility in advanced generations of an Alfalfa single cross hybrid. *Can. J. Genet. Cytol.*, **13**, 834-841.

GRAY E., RICE J. S., and WANG C. L., 1969. Comparison of three indexes of self and cross-compatibility in Alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Crop Sci.*, **9**, 419-420.

GRIFFING B., 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. Austr. J. *Biol. Sci.*, **9**, 463-493.

HAALAND R. *et al.*, 1975. Effects of years, planting arrangements, and methods of pollination on combining ability for seed set of Alfalfa. *Crop Sci.*, **15**, 306-308.

HAYMAN B. I., 1954. The analysis of variance of diallel table. *Biometrics*, **10**, 235-244.

ROTILI P., 1970*a*. L'autofecondazione nel miglioramento genetico della erba medica. *Quad. Sper. Ist. Forag. Lodi.* **1**. (English summary: 50-69).

ROTILI P., 1970*b*. Selfing effects on $S_2$ and $S_3$ generations in *Medicago sativa* L. *Report of Eucarpia Fodder Crop Section Meeting*, Lusignan, 169-188.

ROTILI P., 1976. Performance of diallel crosses and second generation synthetics of alfalfa derived from partly inbred parents. I. Forage yield. *Crop Sci.*, **16**, 247-251.

ROTILI P., 1977. Performance of diallel crosses and second generation synthetics of Alfalfa derived from partly inbred parents. II. Earliness and mortality. *Crop Sci.*, **17** (2), 245-248.

ROTILI P., and ZANNONE L., 1974. General and specific combining ability in lucerne at different levels of inbreeding and performance of second generation synthetics measured in competitive conditions. Euphytica, **23**, 569-577.

ROTILI P., and ZANNONE L., 1976. Performance of diallel crosses among single crosses of alfalfa and comparison of double crosses and synthetics derived from the same parental clones. *Report of EUCARPIA Fodder Crop Section Meeting*, Roskilde, Denmark.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (3), 355-362.

# Possibilités d'identification de certains chromosomes de seigle à l'aide de marqueurs biochimiques

M. BERNARD, J.-C. AUTRAN* et P. JOUDRIER*

*Station d'Amélioration des Plantes,*
*Centre de recherches de Clermont-Ferrand, I.N.R.A.,*
*Domaine de Crouelle — 63100 Clermont-Ferrand*

* *Laboratoire de Recherches sur la Qualité des Blés, I.N.R.A.,*
*16, rue Nicolas-Fortin, 75013 Paris*

## Résumé

L'analyse électrophorétique de la fraction gliadine et de la bêta-amylase de différentes lignées d'addition chromosomique Blé-Seigle a permis de mettre en évidence :

— d'une part, que les composants gliadines du Seigle sont sous la dépendance du chromosome 1 R,

— d'autre part, que le chromosome 5 R est impliqué dans la synthèse des isozymes bêta-amylase du Seigle.

## Introduction

La réalisation des programmes destinés à exploiter les croisements interspécifiques et intergénériques, notamment chez les Triticinae, nécessite la compréhension préalable des relations phylogénétiques entre les espèces utilisées et une bonne connaissance des groupes d'homéologie chromosomique. Or, les méthodes cytogénétiques qui permettent d'arriver à ces fins sont longues, délicates et relativement imprécises, de sorte qu'il est devenu indispensable d'avoir recours à des techniques complémentaires. Il a été précisément démontré que des homéologies pouvaient être mises en évidence par des méthodes biochimiques simples, notamment par comparaison des électrophorégrammes de divers types de protéines.

La recherche de marqueurs biochimiques de gènes se trouve par ailleurs facilitée chez les végétaux où les additions et les substitutions chromosomiques sont réalisables. Rappelons que, dans le cas du Blé et du Seigle, plusieurs lignées présentant de telles additions ou substitutions ont été obtenues (Riley, 1960; Bhattacharyya *et al.*, 1961; Sears, 1968; Gupta, 1972; Bernard, 1976) et que leur étude s'est révélée extrêmement précieuse pour les études de contrôle génétique des protéines.

Ainsi, grâce à l'utilisation de lignées nulli-tétrasomiques du Blé « *Chinese Spring* » et de lignées d'addition du Seigle « *King II* » sur le Blé « *Holdfast* », SHEPHERD (1968) a montré par électrophorèse que les protéines de réserve de type prolamine, dont on a souligné par ailleurs l'intérêt en matière d'identification des variétés (AUTRAN, 1975; AURIAU *et al.*, 1976), étaient sous la dépendance des chromosomes 1 et 6 de chacun des génomes du Blé et du chromosome 1 R du Seigle.

De même, à partir de lignées d'addition, il a été démontré que le chromosome 3 R du Seigle porte un (ou des) gène(s) responsable(s) de la synthèse d'une estérase, cette enzyme dépendant chez le Blé du groupe homéologue 3 (BARBER *et al.*, 1968). Dans le cas de l'alcool déshydrogénase, les gènes impliqués sont localisés sur le groupe homéologue 4 du Blé (HART, 1970) et sur le chromosome 4 R du Seigle (IRANI et BHATIA, 1972). Récemment, TANG et HART (1975), étudiant plusieurs systèmes isoenzymatiques : l'alcool deshydrogénase, la glutamate oxaloacétate transaminase, la phosphatase acide, l'endopeptidase et l'aminopeptidase, ont pu mettre en évidence quels étaient les chromosomes du Seigle impliqués dans leur synthèse.

On peut cependant constater qu'aucun travail similaire n'a encore été réalisé sur la bêta-amylase (laquelle intervient, comme on le sait, pour la valeur boulangère). L'objet du présent article est de faire état des recherches entreprises pour identifier le(s) chromosome(s) du Seigle impliqué(s) dans la synthèse de cette enzyme.

Parallèlement, on a jugé utile d'associer aux résultats obtenus sur ces protéines enzymatiques les travaux récemment réalisés sur des protéines de réserve de type prolamine, dans le but de préciser les conclusions de SHEPHERD (1968, 1973) et de s'assurer des possibilités de leur application aux matériels français.

Dans les deux cas, l'étude est fondée sur l'analyse des lignées d'addition chromosomique Blé-Seigle isolées par BERNARD (1976) : elle a pour objectif de tester des méthodes analytiques simples permettant de préciser la nature des introgressions réciproques observées à la suite de croisements Triticale × Blé.

## Matériels et méthodes

### 1. — *Matériels utilisés*

La variété de Blé hexaploïde « FEC 28 », un Seigle (lignée 10, issue de « Petkus »), ainsi que les lignées d'addition disomiques ($2n = 44$) Blé-Seigle correspondantes : F, D, B, A, E, C portant respectivement les paires de chromosomes : 1, 2, 3/7, 4, 5 et 7/3 R, ont été examinées. Le triticale T 204 ($2n = 56$), issu du croisement « FEC 28 » × Seigle 10 réalisé par Y. CAUDERON, a été étudié pour servir de contrôle.

Les variétés de Blé tendre « Capitole », « Clément », « Benno », « Aurora », « Kaukaz » ont également été analysées.

### 2. — *Méthodes expérimentales*

a) *Extraction et Fractionnement des gliadines*

Chaque grain, préalablement écrasé, est incubé durant une nuit dans 150 µl de chloro-2-éthanol 25 p. 100 à 20 °C afin d'en solubiliser la fraction gliadine. La

suspension ainsi obtenue est directement utilisée pour le dépôt des protéines en électrophorèse.

Le gel d'amidon, utilisé comme support d'électrophorèse, est préparé au moyen d'amidon CONNAUGHT, chauffé à 80 °C, à une concentration de 10 p. 100 dans du tampon lactate d'aluminium (pH = 3,2, $\mu$ = 0,0045).

L'appareillage utilisé est l'AMIDOPHOR (OSI-PLEUGER) : gels de dimension 320 × 120 × 6 mm. Après deux heures de précourant à 8 V/cm et environ 20 mA par gel, les protéines sont déposées dans le gel au moyen de rectangles de papier Whatmann n° 3 (10 mm × 5 mm) imbibés de la solution d'extraction. La migration proprement dite a lieu durant 4 h 45 mm à 8 V/cm et environ 20 mA par gel. Le gel est alors découpé dans son épaisseur, la partie supérieure est éliminée, la révélation des bandes ayant lieu sur la partie inférieure. La coloration est effectuée par la nigrosine 0,05 p. 100 en milieu trichloracétique 2 p. 100 durant une nuit. Le gel est alors rincé dans l'éthanol 40 p. 100 pour éliminer l'excès de colorant. On le conserve indéfiniment dans cette même solution.

Les bandes peuvent être repérées grâce à leur mobilité relative soit à partir du gel, soit à partir d'une photographie. L'échelle des mobilités va de 0 (dépôt) à 100 (alpha-gliadine la plus rapide), le constituant majeur des gamma-gliadines de Blé tendre servant de marqueur.

b) *Extraction, fractionnement et révélation spécifique des bêta-amylases*

A partir d'un grain écrasé, la bêta-amylase totale (JOUDRIER et BOURDET, 1972), c'est-à-dire la totalité des formes libres et liées de la bêta-amylase, est obtenue par incubation durant une nuit dans 200 µl de mercaptoéthanol 0,2 M-NaCl 0,5 M (pH = 7) à 20 °C.

Les protéines sont séparées par électrophorèse en gel de polyacrylamide 7,5 p. 100 en tampon lactate d'aluminium (pH : 3,2; $\mu$ = 0,05). Après migration durant 5 heures à 8 V/cm, les isozymes bêta-amylase sont révélées spécifiquement : le gel est coupé en deux longitudinalement puis incubé à 40 °C pendant 30 mn dans une solution d'amidon 1 p. 100 (pH = 4,5). Après lavages à l'eau, il est mis au contact d'une solution iodo-iodurée (2,6 g d'iode et 6 g d'iodure de potassium par litre). Les bandes ayant une activité bêta-amylasique apparaissent en clair sur fond bleu-noir. Le gel est conservé dans une solution d'acide trichloracétique-éthanol-eau, puis photographié.

Les isozymes ont été réparties en trois groupes C1, C2 et C3, et leur présence ou leur absence nous ont permis de définir 6 types de zymogrammes distincts (JOUDRIER et BERNARD, 1977; AURIAU *et al*, 1976).

c) *Obtention des lignées d'addition Blé-Seigle*

Les sept lignées d'addition, dont une très instable G, non analysée ici, ont été isolées dans les descendances des back-cross : (T 204 = (FEC 28 × Seigle 10)) × (FEC 28)$^2$. Le détail de ce travail est mentionné dans une publication antérieure (BERNARD, 1976). Par confrontation avec le jeu de lignées « *Holdfast* »- « *King II* » obtenu par RILEY (1960), nous avons pu préciser les groupes homéologues auxquels se rattachent ces lignées d'addition, avec une ambiguité pour deux d'entre elles (B et C).

## Résultats et discussion

### I. — *Étude de la fraction gliadine*

L'analyse des lignées d'addition Blé-Seigle doit permettre l'identification de la (ou des) paire(s) de chromosomes du Seigle impliquée(s) dans la synthèse des composants gliadines.

La figure I montre précisément que toutes les lignées d'addition présentent des diagrammes identiques à celui du blé « *FEC 28* », à l'exception de la lignée F qui porte plusieurs composants supplémentaires (mobilités 45, 50, 53, 56, 73, 78). De toute évidence, ces composants proviennent du Seigle car ils caractérisent le diagramme de cette espèce et apparaissent aussi dans tous les Triticale, notamment T 204.

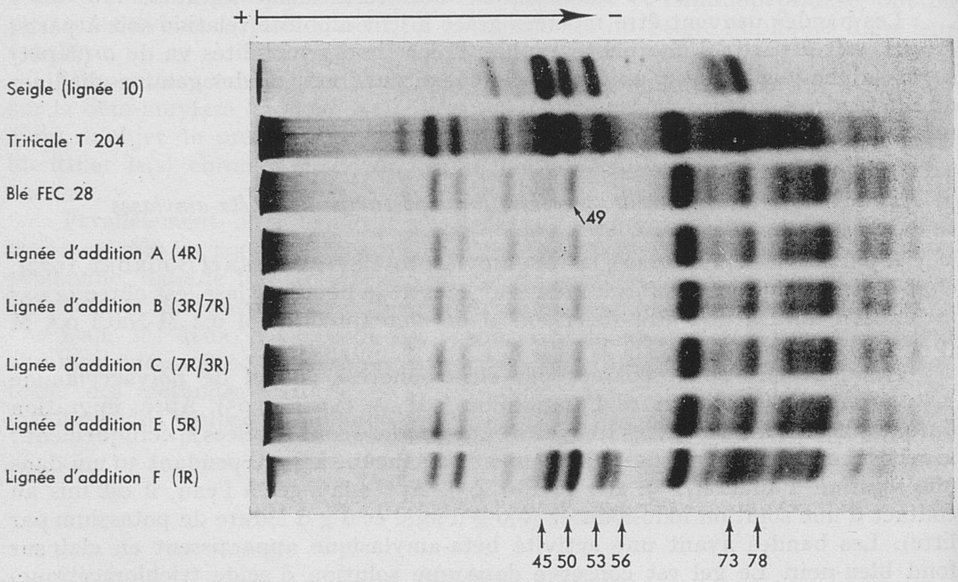



FIG. I. — *Diagrammes électrophorétiques en gel d'amidon (tampon lactate d'Al, pH 3,2) de la fraction gliadine de 5 lignées d'addition chromosomique Blé-Seigle comparativement aux témoins Blé, Seigle et Triticale.*

Les composants majeurs du diagramme du Seigle sont donc vraisemblablement sous la dépendance du chromosome correspondant à la lignée F (chromosome I R). Une confirmation de ce résultat est apportée par l'analyse électrophorétique de la variété de Blé « Clément » qui possède le chromosome I R (ou un fragment de ce chromosome) dans son génome. La figure 2 montre que le diagramme de « Clément » porte des composants majeurs de mobilités 45 et 53, que l'on ne rencontre pratiquement jamais chez les autres blés, et qui ont donc été très probablement apportés par le Seigle. Le diagramme de « Clément » apparaît finalement assez voisin de celui d'un Triticale. On note également que les variétés « Benno », « Aurora » et « Kaukaz » renferment, entre autres, les mêmes composants 45 et 53, ce qui confirme qu'elles possèdent au moins un fragment du chromosome I R (METTIN, BLUTHNER et SCHLEGEL, 1973).

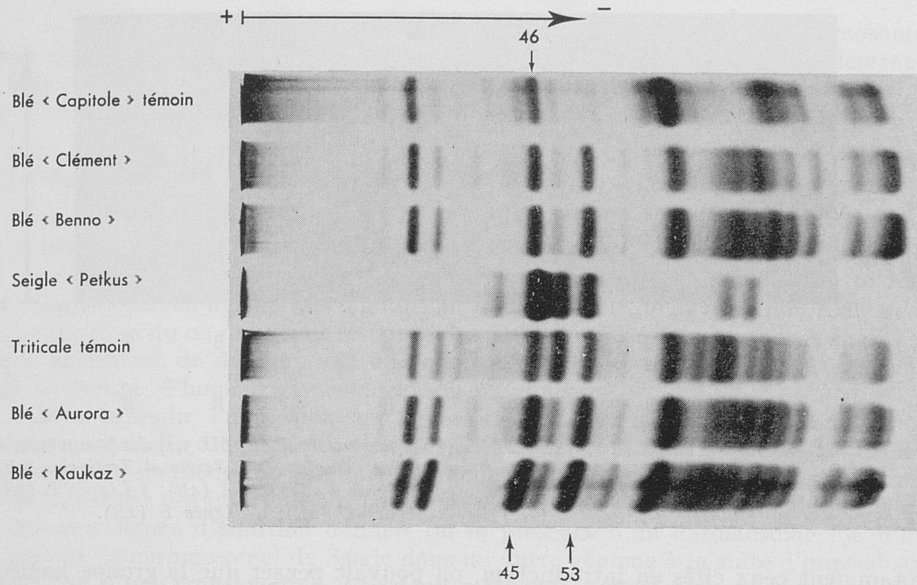



FIG. 2. — *Diagrammes électrophorétiques en gel d'amidon (tampon lactate d'al, pH 3,2) de la fraction gliadine de 4 blés supposés renfermer un fragment du chromosome 1R du Seigle, comparativement aux témoins : Blé « Capitole », Seigle et Triticale.*

Les composants majeurs du diagramme gliadine du Seigle constituent donc des marqueurs du chromosome 1 R. On rappelle que chez le Blé, les gliadines dépendent des groupes 1 et 6 (SHEPHERD, 1968; WRIGLEY et SHEPHERD, 1973; AUTRAN, 1975). Chez le Seigle, au contraire, (bien que la lignée d'addition G qui correspond au groupe 6 d'homéologie, n'ait pas pu être analysée ici), il semble bien que le seul chromosome 1 R contrôle toutes les gliadines, ce qui confirme les résultats de SHEPHERD et JENNINGS (1971), et de SHEPHERD (1973).

## 2. — *Étude de la bêta-amylase*

Les résultats sont donnés dans la fig. 3. D'après la nomenclature des isozymes bêta-amylase (JOUDRIER, 1974), il apparaît que la variété de blé tendre « *FEC 28* » (dépôt 1) est du type bêta-amylasique II, et que la lignée de Seigle s'apparente au type VI (dépôt 3). Le Triticale T 204, étant du type I (dépôt 2) a donc un zymogramme qui correspond à la somme de ceux du Blé et du Seigle.

En ce qui concerne les différentes lignées d'addition Blé-Seigle analysées (dépôts 4 à 9), seule la lignée E (dépôt 5), qui correspond au groupe 5 d'homéologie, se différencie des autres par la présence d'un groupe d'isozymes supplémentaires (C 2), de sorte que son zymogramme est identique à celui du Triticale T 204. On peut donc raisonnablement penser que la paire de chromosomes du Seigle portée par la lignée E est responsable de la synthèse des constituants bêta-amylasiques de ce dernier, donc que les isozymes du groupe C 2 du seigle dépendent du chromosome 5 R.

Des travaux récents ont montré que les groupes C 1 et C 3 du zymogramme du Blé tendre sont respectivement sous la dépendance des bras chromosomiques 4 A$\beta$ et 4 $D^L$ (JOUDRIER et CAUDERON, 1976). Par analogie avec d'autres travaux,

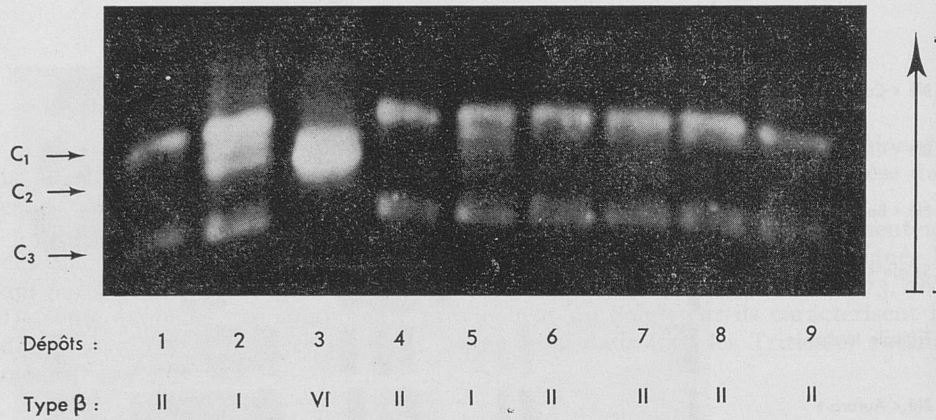



FIG. 3. — *Zymogramme en gel de polyacrylamide (Tampon lactate d'Al., pH 3,2) des β-amylases de 6 lignées d'addition Blé-Seigle, comparativement aux témoins Blé, Seigle et Triticale. 1-Blé FEC 28 »; 2-Triticale T 204; 3-Seigle, lignée 10; 4-lignée d'addition A (4R); 5-Lignée E (5R); 6-Lignée B (3R/7R); 7-Lignée C (7R/3R); 8-Lignée D (2R); 9-Lignée F (1R).*

notamment ceux cités en introduction, on pouvait penser que le groupe homéologue 4 était impliqué dans la synthèse de l'ensemble des constituants de la bêta-amylase.

Sans préjuger de l'identité réelle des isozymes du Seigle qui, en raison de leurs caractéristiques de mobilité, peuvent être assimilés à ceux du groupe $C_2$ des blés de type I, III, V et VI, on pouvait penser que le groupe « $C_2$ du Seigle » était sous la dépendance du chromosome 4 R.

Il semble au contraire, d'après les résultats obtenus ici, que les bêta-amylases du Seigle dépendent du chromosome 5 R et que, comme pour d'autres enzymes, notamment les peroxydases (KOBREHEL et FEILLET, 1975), les chromosomes de deux groupes homéologues différents soient concernés.

Bien que la variabilité isoenzymatique de la bêta-amylase du Seigle ait été encore insuffisamment étudiée, ce premier résultat paraît confirmer les observations de DARVEY (1973). Cet auteur a, en effet, montré que les chromosomes 4 R, 5 R et 6 R jouaient un rôle privilégié dans la manifestation de l'échaudage du grain de Triticale.

En ce qui concerne le rôle du chromosome 6 R, on peut faire l'hypothèse qu'il est responsable de la synthèse de l'alpha-amylase, car NISHIKAWA (1971) a démontré que cette enzyme dépendait du groupe homéologue 6 du Blé. Par ailleurs, SHEALY et SIMMONDS (1973), étudiant les manifestations histologiques et biochimiques de l'échaudage du grain de Triticale en cours de maturation, ont montré qu'il existait une synthèse précoce d'alpha-amylase entraînant une digestion prématurée des grains d'amidon. Cette hydrolyse devant se faire simultanément par la bêta-amylase, il est possible que la responsabilité du chromosome 5 R intervienne à ce niveau.

## Conclusions

L'analyse biochimique de 6 lignées d'addition Blé-Seigle a permis de mettre *en évidence*, d'une part :

— que les principaux constituants du diagramme gliadine du Seigle dépendent du seul chromosome 1 R, résultat qui confirme celui de SHEPHERD (1973);

— que la présence du chromosome 1 R ou d'un fragment de ce chromosome, peut être décelée dans le génome d'une variété de Blé tendre (cas de « Clément » « Benno », « Aurora » et « Kaukaz »).

et d'autre part :

— que le chromosome 5 R est impliqué dans la synthèse de la bêta-amylase du Seigle.

Ces conclusions montrent que des marqueurs biochimiques peuvent apporter des solutions rapides au problème d'identification des chromosomes du Seigle, si les constituants étudiés sont électrophorétiquement distincts de ceux du Blé.

Après examen des lignées d'addition, il est possible de déduire non seulement la localisation du ou des gènes responsables de la synthèse des marqueurs analysés, mais également de donner, soit une confirmation, soit une première indication, sur le groupe d'homéologie éventuellement concerné.

Bien entendu, l'obtention des lignées correspondant aux substitutions optimales, quand elle est possible, peut permettre une confirmation définitive. Mais, outre que la méthode biochimique demande beaucoup moins de temps et donne simultanément des informations supplémentaires, elle peut servir ensuite à reconnaître une lignée d'addition donnée, ou la présence d'un chromosome (ou d'un fragment de chromosome) de Seigle dans un autre génome à la suite d'une substitution ou d'une translocation. Les deux méthodes, cytogénétique et biochimique, sont donc complémentaires, car l'une apporte une preuve de l'existence d'une information génétique extérieure à l'espèce considérée, tandis que l'autre renseigne sur la nature de l'élément étranger (substitution, addition ou translocation). Remarquons toutefois que la présence d'un élément étranger peut ne pas être décelable biochimiquement (par exemple : s'il est muet pour la fonction considérée) ou cytologiquement (si, par exemple, il ne perturbe pas la gamétogenèse). Un objectif est donc d'augmenter le nombre de marqueurs biochimiques utilisables pour de telles études.

*Reçu pour publication en Juillet 1976.*

## Summary

*Use of biochemicals markers to identify Rye chromosomes.*

The gliadins and beta-amylase electrophoregrams phenotypes of « FEC 28 » wheat, rye line 10, T 204 triticale and the series of six disomic rye chromosome additions to « FEC 28 » were determined.

Extracts were electrophoresed for the determination of the gliadins in horizontal starch gels and of the beta-amylases in horizontal polyacrylamide gels, using methods previously described (see text). The series of seven disomic *Secale cereale* L. cultivar line 10 chromosome addition to the *Triticum aestivum* L. cultivar « FEC 28 » has been developed by BERNARD (1976).

For the gliadins, it was found that the rye constituents are under the dependance of chromosome 1 R, results which are in good agreement with the SHEPHERD'S (1968, 1973) (see fig. 1). This result permits to confirm that wheat cultivars «*Clement*», «*Benno*», «*Aurora*» and «*Kaukaz*» have the chromosome 1 R (or a fragment) in their own genome because they possess the same constituents observed in the rye diagram (see fig. 2).

For beta-amylases zymograms, it seems that chromosome 5 R is implicated in the synthesis of rye isozymes (see fig. 3). So we discussed the possible part of chromosome 5 R in the triticale seed shrivelling starting from the results of DARVEY (1973).

We concluded on the complementarity of genetic and biochemical methods in the chromosome identification.

## Références bibliographiques


AURIAU P., AUTRAN J. C., CHARBONNIER L., DOUSSINAULT G., FEILLET P., GODON B., GRIGNAC P. JOUDRIER P., KOBREHEL K., KOLLER J., ROUSSET M. et RIVALLANT S., 1976. Variabilité génétique de la composition des gliadines, gluténines, bêta-amylases, alpha-estérases, péroxydases et phosphatases acides du Blé (*Triticum aestivum*). *Ann. Amélior. Plantes*, **26** (1), 51-66.

AUTRAN J. C., 1975. Nouvelles possibilités d'identification des variétés françaises de blé par électrophorèse des gliadines du grain. *Indust. agric. alim.*, **9 -10**, 1 075-1 094.

BARBER H. N., DRISCOLL C. J. et VICKERY R. S., 1968. Enzymic markers for wheat and rye chromosomes. *Proc.* **3rd** *Int. Wheat Genet. Symp.* Canberra, 116-122.

BERNARD M., 1976. Étude des caractéristiques cytologiques, morphologiques et agronomiques de six lignées d'addition Blé-Seigle. *Ann. Amélior. Plantes*, **26**, 1, 67-91.

BHATTACHARYYA N. K., EVANS L. E., JENKINS B. C., 1961. Karyotype analysis of the individual « Dakold » fall Rye chromosome additions to « Kharkov » winter wheat. *Nucleus*, **4**, 25-28.

DARVEY N. L., 1973. Genetics of seed shrivelling in wheat and Triticale. *Proc.* **4rd** *Int. Wheat Genet. Symp.*, Columbia, MO., 155-159.

GUPTA P. K., 1972. Cytogenetic evolution in the *Triticinae* : homeologous relationships. *Genetica* **43**, 504-530.

HART G. E., 1970. Evidence for triplicate genes for alcohol dehydrogenase in hexaploid Wheat. *Proc. nat. Acad. Sci.*, **66**, 1136-1141.

IRANI B. N., BHATIA C. R., 1972. Chromosome location of alcohol dehydrogenase gene(s) in Rye using Wheat-Rye addition lines. *Genetica* **43**, 195-200.

JOUDRIER P., BOURDET A., 1972. Aspect génétique des activités bêta-amylasiques dans le grain de blé. *Ann. Amélior. Plantes*, **22**, 263-279.

JOUDRIER P., 1974. Spécificité génétique de la bêta-amylase chez *Triticum aestivum* : existence de cinq types variétaux de zymogrammes. *C. R. Acad. Sci.* Paris, **278**, Série D, 1 777-1 780.

JOUDRIER P., BERNARD M., 1977. Responsabilité du génome D sur certaines isozymes bêta-amylase du grain de blé tendre. *Ann. Amélior. Plantes*, 27, (1) 35-47.

JOUDRIER P. et CAUDERON Y., 1976. Localisation chromosomique de gènes contrôlant la synthèse de certains constituants bêta-amylasiques du grain de blé tendre. *C. R. Acad. Sci.* Paris, **282**, Série D, 115-118.

KOBREHEL K., FEILLET P., 1975. Identification of genomes and chromosomes involved in peroxydase synthesis of wheat Seeds. *Can. J. Bot.*, **53**, 20, 2 336-2 344.

METTIN D., BLUTHNER W. D. and SCHLEGEL G., 1973. Additionnal evidence on spontaneous 1B /1R wheat rye substitutions and translocations. *Proc.* **4***th Int. Wheat Genet. Symp.*, Columbia. Missouri, 172-184.

NISHIKAWA K., NOBUHARA M., 1971. Genetic studied of alpha-isozymes in wheat. I. — Location of genes and variation in tetra and hexaploid wheat. *Jap. J. Genet.* **46**, 5, 345-353.

RILEY R., 1960. The meiotic behaviour, fertility and stability of Wheat-Rye chromosome addition lines. *Heredity*, **14**, 89-100.

SEARS E. R., 1968. Relationships of chromosomes 2 A, 2 B, and 2 D with their Rye homeologue. *Proc.* **3***rd Int. Wheat Genet. Symp.* Canberra, 53-61.

SHEALY H. E., SIMMONDS D. H., 1973. The early developmental morphology of the Triticale grain. *Proc.* **6***rd Int. Wheat Genet. Symp.*, Columbia, Mo., 265-270.

SHEPHERD K. W., 1968. Chromosomal control of endosperm proteins in Wheat and Rye. *Proc.* **3***rd Int. Wheat Genet. Symp.*, Camberra, 86-96.

SHEPHERD K. W., 1973. Homeology of wheat and alien chromosomes controlling endosperm phenotypes. *Proc.* **4***rd Int. Wheat Genet. Symp.*, Columbia, Mo., 745-760.

SHEPHERD K. W., JENNINGS A. C., 1971. Genetic control of rye endosperm proteins. *Experientia*, **27**, (1), 98-99.

TANG K. S., HART G. E., 1975. Use of isozymes as chromosomes markers in Wheat-Rye addition lines and in Triticale. *Genet. Res.* **26**, 2, 187-201.

WRIGLEY C. W., SHERPHERD K. W., 1973. Electrofocusing of grain proteins from Wheat genotypes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **209**, 154-162.

ZELLER F. J., 1973. IB /IR wheat-rye chromosome substitutions and translocations. *Proc.* **4***th Int. Wheat Genet. Symp.* Columbia, Mo., 209-221.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (3), 363-368.

# Tentative d'utilisation des protoplastes pour l'étude des chromosomes chez les *Prunus*

G. SALESSES et A. MOURAS

*Station d'Arboriculture fruitière,*
*Centre de Recherches de Bordeaux, I.N.R.A.,*
*33140 Villenave-d'Ornon*
*Université de Bordeaux II, Laboratoire de Biologie cellulaire,*
*33400 Talence*

## Résumé

La mise au point chez les *Prunus* d'une technique récente utilisant des protoplastes en division est décrite et les premiers résultats présentés.

Elle doit permettre de développer chez les espèces à petits chromosomes, comme les *Prunus*, des techniques de « banding » pour l'identification précise des chromosomes mitotiques.

## Introduction

La technique mise au point pour l'étude des chromosomes mitotiques chez les *Prunus* (SALESSES — 1967, 1970) reste valable pour les travaux de dénombrement nécessaires dans le cadre du programme d'hybridation interspécifique développé. Elle ne permet pourtant pas l'étude de la morphologie des chromosomes et donc l'établissement de caryogrammes; cet échec est dû essentiellement à la petite taille des chromosomes et à la difficulté d'obtention d'étalements très satisfaisants.

L'utilisation des protoplastes en division, conjuguée avec une bonne préfixation, semble devoir permettre une étude plus fine et précise des chromosomes chez les espèces fruitières.

Cette technique a été développée pour la première fois par l'un d'entre nous (MOURAS, 1975) pour l'étude caryologique des cultures de tissus de Tabac *in vitro*.

Les préparations ainsi obtenues paraissent aptes au développement des techniques de « banding » quelles qu'elles soient.

## I. — La technique

### a. — *Principe*

Les cellules végétales débarrassées de leur paroi, peuvent-être assimilées à des lymphocytes animaux et utilisées d'une façon identique pour les études caryologiques. L'absence de paroi et le choc osmotique subi sont alors à même de donner des étalements très satisfaisants.

### b. — *Mise en œuvre de la technique*

Nous aborderons chaque étape de celle-ci en insistant sur quelques points importants.

1. *Préfixation*

Des pointes de racines très jeunes issues soit de bouturage, soit de plantules de semis sont récoltées dans une solution aqueuse d'agent mitoclasique; des essais systématiques impliquant plusieurs agents préfixateurs (α chloronaphtalène, aesculine, chloral-hydrate, colchicine...) et des temps variés (30 mn à 6 h), ont montré qu'après 4 h 30 à 5 heures d'action de l'α-monobromonaphtalène, en solution saturée, les chromosomes ont une taille et une structure inhabituelles très favorables. La température peut modifier assez sensiblement l'action de ce produit : de bons résultats sont obtenus à 18-20 °C. Du succès de cette préfixation dépend le résultat final : c'est sans nul doute une étape capitale.

2. *Obtention des protoplastes*

A l'issue du prétraitement les racines sont rincées pour éliminer l'excès de préfixateur puis placées dans un milieu de macération de molarité 0,2 M, dont la composition est la suivante :

| | |
|---|---|
| Eau distillée : | |
| Citrate trisodique | 0,05 M |
| Sorbitol | 0,15 M |
| Cellulase « Onozuka » R 10 | 1 p. 100 |
| Macérozyme R 10 | 1 p. 100 |

Le pH est ajusté à 5,7 après adjonction des deux premiers produits. La macération, en agitation continue, est conduite au bain-marie à 28 °C pendant 1 heure à 1 h 30.

Après dissociation mécanique ménagée, la suspension est centrifugée à 100 g pendant 3 minutes, puis le culot de centrifugation est rincé dans un milieu contenant :

| | |
|---|---|
| Eau : | |
| Sorbitol | 0,15 M |
| K Cl | 0,05 M |

3. *Choc osmotique et fixation*

Après le rinçage, le choc hypotonique subi par les protoplastes en suspension constitue l'une des étapes importantes de la technique : l'application du mélange eau-milieu de rinçage dans la proportion 1/2 volume/1 volume, pendant 12 à 14 minutes donne en général des résultats satisfaisants.

La fixation dans l'alcool acétique (3 : 1) nécessite un minimum de 30 minutes.

4. *Étalement et coloration*

La suspension est distribuée goutte à goutte à la surface d'une lame préalablement placée dans un mélange eau-alcool et réfrigérée.

Le séchage peut se faire de deux façons :

— à l'air si l'on désire traîter les lames par un procédé de type « dénaturation-renaturation » pour obtenir du « banding ».

— par flambage des lames au-dessus d'une lampe à alcool pour une observation morphologique classique.

La coloration est réalisée après hydrolyse dans HCl (N) à 60 °C pendant 7 minutes, dans une solution de Giemsa (Gurr) à 4 p. 100 dans un tampon phosphate à pH = 6.8 pendant 10 à 15 minutes.

## II. — Les résultats

Les essais réalisés jusqu'ici ont été conduits essentiellement sur Pêcher, espèce diploïde, assez difficile à observer par la voie classique et sur une autre espèce diploïde, *P. brigantiaca*.

Les premiers résultats obtenus, illustrés par les photographies présentées, laissent espérer l'obtention très prochaine du caryotype de la plupart des espèces du genre *Prunus*. La possibilité de présenter un caryogramme assez précis constitue déjà un progrès considérable chez ces espèces.

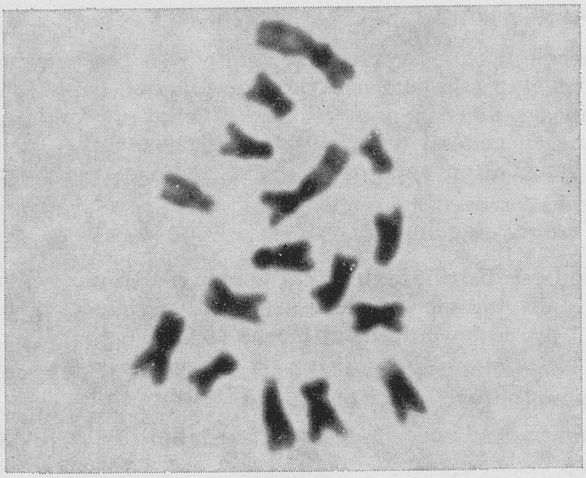
Il est intéressant de signaler que, l'objectif n'étant pas le « banding » dans cette première étape de la mise au point, le séchage par flambage suivi de coloration par le Giemsa donne un marquage assez net des zones hétérochromatiques, ce qui peut faciliter une première distinction entre chromosomes de taille à peu près égale.

## III. — Discussion et conclusion

La technique « squash » utilisée chez les *Prunus* ne permettant pas d'obtenir des plaques de qualité satisfaisante en assez grand nombre, essentiellement chez les espèces diploïdes, la méthode décrite ci-dessus s'avère donc très intéressante.

Après légère mise au point, elle devrait rendre de grands services pour toutes les espèces végétales à chromosomes petits à moyens, pour l'analyse fine de la morphologie des chromosomes par « banding ».

L'identification des chromosomes chez les diverses espèces de *Prunus* ne pourra se faire qu'en utilisant « cet outil », les observations réalisées jusqu'ici par voie classique, d'une part ne permettant que très exceptionnellement d'esquisser un caryogramme et d'autre part semblant révéler chez toutes les espèces diploïdes étudiées une morphologie sensiblement identique.



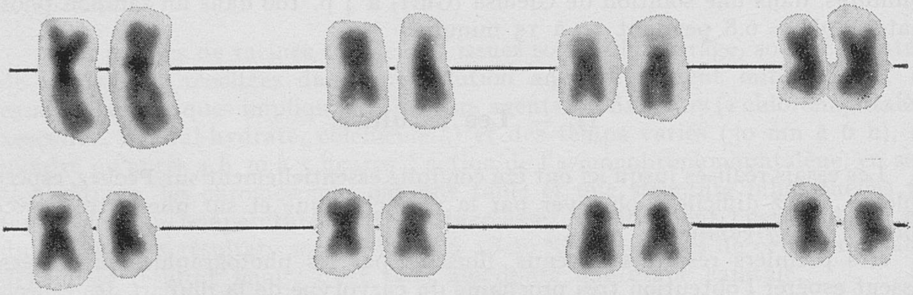
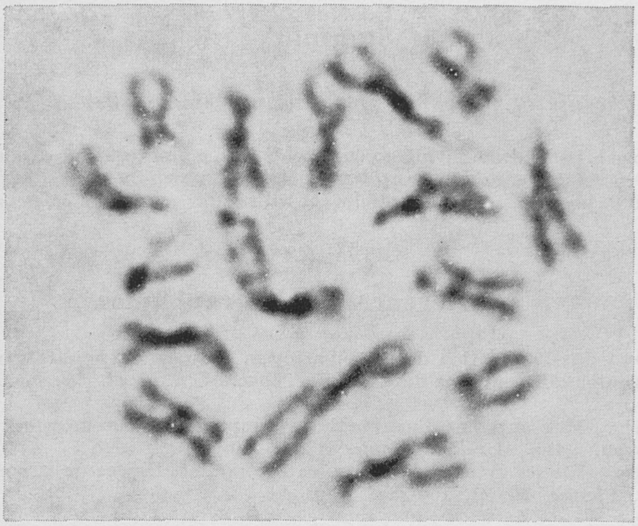


FIG. 1. — *Métaphase et caryogramme chez* P. brigantiaca.

Au cours de cette mise au point nous avons observé un phénomène particulier en ce qui concerne l'action des agents mitoclasiques sur les chromosomes de *Prunus* : si l'action de l'α bromonaphtalène nous donnait des chromosomes bien dispersés mais très contractés après 3 heures de traitement à la température du laboratoire, la même contraction est observée si l'on utilise de l'eau distillée à la même température : seule la fréquence des cellules en métaphase semble changée. Il est alors tout aussi surprenant quand on prolonge le traitement par l'α-bromonaphtalène pendant 4 h 30 à 5 heures, d'observer des chromosomes beaucoup plus longs et bien « structurés ». Le même phénomène est noté chez les *Corylus.* Il reste assez délicat de proposer une explication précise à ces phénomènes.

La taille apparente des chromosomes chez les *Prunus* en métaphase vraie, varie après un tel traitement de 1 à 2,80 microns environ alors que l'on obtient aussi des plaques en prométaphase, particulièrement aptes au « banding », dont la taille des chromosomes peut atteindre sensiblement le double (cf. fig. 1 et 2).

L'action de ces produits dérivés du naphtalène variant nettement avec la température d'une part, une interaction semblant exister entre l'état de contraction consécutif à la préfixation et l'action du choc hypotonique d'autre part, des essais systématiques sont nécessaires pour chaque espèce dans un genre donné.



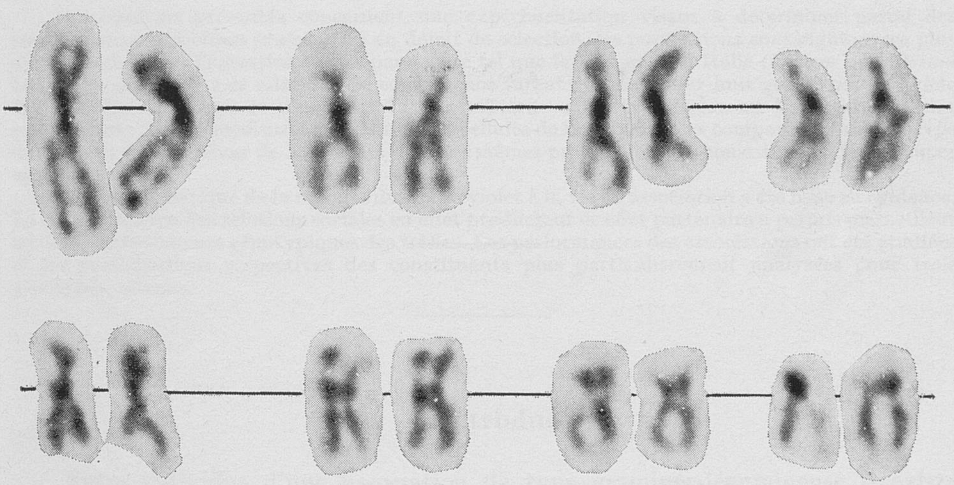


FIG. 2. — *Prométaphase et caryogramme chez* P. persica.

Certes la mise en œuvre de cette technique nécessite un certain nombre de racines mais elle semble constituer actuellement l'unique moyen pour obtenir chez les *Prunus* des préparations permettant une identification des chromosomes mitotiques; il est vraisemblable que cette conclusion pourra être étendue à de nombreuses autres espèces ligneuses pérennes.

*Reçu pour publication en septembre 1976*

## Summary

*The use of protoplasts for* Prunus *chromosomes study*

With protoplasts issued from dividing young roots tips, a new technic by using an hypotonic shock may allow to obtain very satisfactory scatterings from which the " banding " of the mitotic chromosomes will be possible. The first results get with *P. persica* and *P. brigantiaca* (fig. 1 et 2) are hopeful.


## Références bibliographiques


MOURAS A., 1975. Sur l'utilisation de protoplastes en caryologie : application au dénombrement chromosomique des cultures de tissus de Tabac. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **281**, série D, 255-258.

SALESSES G., 1967. Mise au point d'une méthode comptage des chromosomes chez les arbres fruitiers à noyau. *Ann. Amélior. Plantes*, **17** (2), 207-210.

SALESSES G., 1970. Études cytologiques chez les *Prunus*. I. Espèce de la section *Euprunus*. *Ann. Amélior. Plantes*, **20** (4), 469-483.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (3), 369-387.

# Aptitude à la vie en association chez le Trèfle violet [1]

J.-P. MAÎTRE

*Chaire d'Agronomie,*
*École nationale d'Ingénieurs des Travaux agricoles,*
*21800 Quetigny*

## Résumé

Les résultats présentés concernent une expérimentation visant à déterminer parmi des trèfles violets (*Trifolium pratense* L.) en début de sélection, les populations consanguines les plus aptes à résister à « l'agression » d'un partenaire tel que le Ray grass d'Italie (*Lolium multiflorum lamk.* ssp. *italicum*). Les relations de concurrence furent étudiées pour huit génotypes de Trèfle violet et deux cultivars de Ray grass d'Italie (« Tiara » et « Rina ») selon un dispositif split-plot comprenant : des monocultures de trèfle et des cellules de « compétition » composées d'un génotype de trèfle et d'un cultivar de Ray grass dans les mêmes proportions des constituants. Trois coupes ont été réalisées.

L'origine génétique de la réponse du Trèfle violet à la vie en association a été mise en évidence. La décomposition des relations sociales en effet producteur et effet partenaire a permis un meilleur tri des comportements génotypiques des trèfles. Les performances des associations ont été étudiées et les participations respectives des constituants plus particulièrement analysées pour trois génotypes retenus.

## A. — Introduction

Entre individus d'une association de type graminée-légumineuse il existe des actions réciproques qui modifient les caractéristiques de l'association telles que les proportions des constituants.

Des études portant sur les relations sociales entre constituants d'associations binaires montrent qu'il est possible d'apprécier les manifestations des interactions biologiques par des réponses plastiques ou des évolutions de peuplement (CHALBI, 1967; JACQUARD, 1968). Il semble que les interférences observées sur des espèces données soient d'origine génétique (SAKAI, *in* JACQUARD, 1968) et que la « compétitivité génotypique » trouve son expression phénotypique dans les caractères morpho-physiologiques d'agressivité modelés par l'environnement physique et biologique (NGUYEN VAN, 1969).

[1] Exposé présenté à la réunion organisée par le Groupe « plantes fourragères » de l'Association des Sélectionneurs Français sur les Associations Graminées-Légumineuses. Versailles 4-2-1976.

Dès lors il devient nécessaire de tenir compte des effets de groupe et d'envisager leur utilisation en amélioration des plantes (JACQUARD, 1975; GALLAIS, 1975) et en particulier dans les programmes de sélection des plantes fourragères (ROTILI et ZANNONE, 1971, 1975). Pour envisager la création et le contrôle de nouvelles associations plus productives, GALLAIS (1970) propose un modèle d'analyse décomposant les effets des différents génotypes en présence en effets simples tels qu'effet producteur et effet partenaire. Dans le cadre des travaux de sélection du Trèfle violet entrepris à la station d'Amélioration des Plantes de l'I.N.R.A. de Dijon, nous avons étudié le comportement de quelques familles consanguines de trèfle afin de trier les génotypes les plus aptes à la vie en association avec un partenaire tel que le Ray grass d'Italie.

Les termes particuliers employés dans le texte et relatifs aux actions réciproques entre individus ont été publiés pour certains par un groupe de travail d'EUCARPIA (1973).

## B. — Matériel et méthodes

L'objectif de l'essai revenait à tester une série de familles consanguines de Trèfle violet diploïde avec 2 partenaires testeurs communs (Ray grass d'Italie) et de ce fait notre méthode de travail était plus axée sur le comportement des génotypes de Trèfle que sur le comportement simultané des deux espèces associées.

### I. — *Plan expérimental*

Les relations de concurrence furent étudiées sur des végétations simplifiées (fig. 1) :

— cellules de « compétition » comprenant un génotype de Trèfle violet et un cultivar de Ray grass d'Italie dans les mêmes proportions des constituants (50 : 50),

— monocultures de Trèfle à même densité.

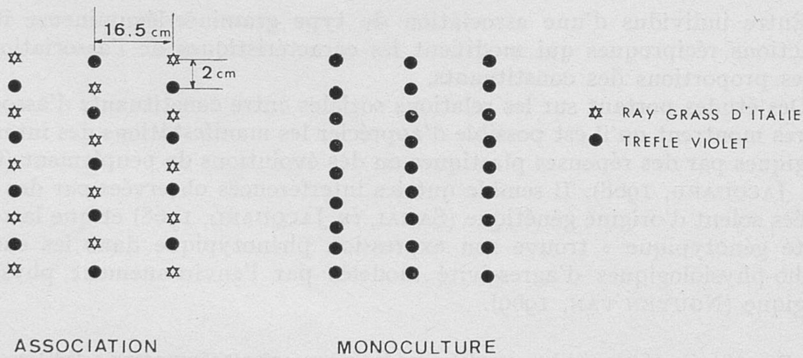



FIG. 1. — *Disposition des deux espèces dans une parcelle*

Des monocultures de Ray grass d'Italie étaient conduites « hors essai » et faisaient l'objet d'un dispositif en blocs qui bénéficiait des mêmes conditions environnementales.

L'essai a été conduit en serre, sur substrat artificiel avec apport de solution nutritive.

Le dispositif choisi était de type split plot à 4 répétitions, avec pour premier facteur le Trèfle à 8 niveaux (8 génotypes) et pour second facteur « l'intensité de la concurrence » (monocultures de Trèfle, associations avec le Ray grass d'Italie « Tiara », associations avec le ray grass d'Italie « Rina »).

Monocultures et associations étaient composées de 180 plantes par parcelle repiquées à la même taille (radicule comprise entre 0,5 cm et 1,5 cm) et disposées selon 6 lignes.

L'essai a été mis en place à la fin du mois d'avril 1971.

La récolte des parties aériennes a été effectuée aux ciseaux, seule la matière sèche a été étudiée. Trois coupes furent réalisées :

$1^{re}$ coupe : fin juillet 1971

$2^{e}$ : coupe : fin août 1971

$3^{e}$ coupe : début novembre 1971

Le comportement et l'aptitude à la vie en association de chaque génotype (nous adopterons ce terme à la place de famille consanguine) ont été analysés et estimés sur la base du modèle de GALLAIS (1970).

## II. — *Notations employées*

a) *Constituants*

$t$ = Trèfle violet comprenant 8 génotypes numérotés de 1 à 8.
Un premier groupe comprend des génotypes (1, 2, 3, 4) qui sont chacun issu d'une génération de consanguinité frère × sœur.
Un deuxième groupe comprend des génotypes (5, 6, 7, 8) qui sont chacun issu de plus de 2 générations de consanguinité frère × sœur.

$r$ = Ray grass d'Italie comprenant 2 cultivars : « Tiara » noté $a$
« Rina » noté $b$

b) *Performances des constituants*

$y_{t/r}$ = production de matière sèche du trèfle $t$ en présence du ray grass $r$

$y_{r/t}$ = production de matière sèche du ray grass $r$ en présence du trèfle $t$

Pour un couple $\{t, r\}$ la production du génotype $t$ en présence de $r$ peut s'écrire (GALLAIS, 1970; GALLAIS et ROUSVOAL, 1973).

$$y_{t/r} = \mu + \alpha t + \beta r + \gamma_{t/r}$$

$\mu$ = moyenne de toutes les associations

$\alpha t$ = effet producteur moyen d'un génotype $t$ en présence des $r$ ray grass

$\beta r$ = effet partenaire moyen du ray grass $r$ sur les $t$ génotypes de trèfle

$\gamma_{t/r}$ = effet d'interaction « producteur $t$ × partenaire $r$ »

Selon le signe de chaque paramètre principal, il peut y avoir pour un génotype :

— amélioration du comportement ($\alpha_t > 0$) ou « dépression » ($\alpha_t < 0$),

— agressivité ($\beta_r < 0$) ou stimulation ($\beta_r > 0$) de la part du partenaire.

c) *Rendements des associations et des monocultures*

L'association du génotype $t$ avec le ray grass $r$ peut s'écrire :

$$Ztr = y_{t/r} + y_{r/t}$$

Deux nouveaux paramètres peuvent donc être considérés :

$gt = 1/2\,(\alpha t + \beta t)$ c'est la production moyenne des associations dans lesquelles figure le génotype $t$. C'est en fait l'aptitude générale à la vie en association.

$ct = 1/2\,(\alpha t - \beta t)$ c'est le degré moyen de dominance du génotype $t$ (dominance générale).

Les monocultures sont notées : $y_{tt}$ pour le trèfle avec $y_{tt} = 2y_{t/t}$
et $y_{rr}$ pour le ray grass avec $y_{rr} = 2y_{r/r}$

## III. — *Analyses effectuées*

Les données ont été récapitulées selon le modèle des tableaux 1 et 2 où chaque constituant joue tantôt le rôle de producteur, tantôt le rôle de partenaire.

Les analyses ont porté sur :

— la production du trèfle en association et en culture pure ($y_{t/r} + y_{t/t}$),

— la production du trèfle en association ($y_{t/r}$),

— la production du ray grass en association ($y_{r/t}$),

— la production des associations ($y_{t/r} + y_{r/t}$).

TABLEAU 1

*Table de codes, producteur trèfle*

| | | Producteur $t$ | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Partenaire $r$ | $a$ | $y_{1/a}$ | $y_{2/a}$ | $y_{3/a}$ | $y_{4/a}$ | $y_{5/a}$ | $y_{6/a}$ | $y_{7/a}$ | $y_{8/a}$ |
| | $b$ | $y_{1/b}$ | $y_{2/b}$ | $y_{3/b}$ | $y_{4/b}$ | $y_{5/b}$ | $y_{6/b}$ | $y_{7/b}$ | $y_{8/b}$ |
| Monoculture | $t$ | $y_{1/1}$ | $y_{2/2}$ | $y_{3/3}$ | $y_{4/4}$ | $y_{5/5}$ | $y_{6/6}$ | $y_{7/7}$ | $y_{8/8}$ |

TABLEAU 2

*Table de codes, producteur ray grass*

| | | Partenaire $t$ | | | | | | | | Monoculture |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | $r$ |
| Producteur $r$ | $a$ | $y_{a/1}$ | $y_{a/2}$ | $y_{a/3}$ | $y_{a/4}$ | $y_{a/5}$ | $y_{a/6}$ | $y_{a/7}$ | $y_{a/8}$ | $y_{a/a}$ |
| | $b$ | $y_{b/1}$ | $y_{b/2}$ | $y_{b/3}$ | $y_{b/4}$ | $y_{b/5}$ | $y_{b/6}$ | $y_{b/7}$ | $y_{b/8}$ | $y_{b/b}$ |

Les performances des ray grass en monoculture ont fait l'objet d'analyses indépendantes afin de nous permettre quand même d'envisager les tendances du comportement des cultivars.

## C. — Résultats

Il semble évident que les génotypes à retenir soient ceux qui puissent stimuler le partenaire tout en étant stimulé par lui, cependant les génotypes à stimulation modérée voire à agressivité faible ne sont pas à écarter (GALLAIS, 1975).

En outre, des situations de compétition avec surcompensation, sont à rechercher.

Enfin, le troisième critère de tri des génotypes sera le meilleur niveau absolu des performances de l'association par rapport au meilleur partenaire testé en monoculture (JACQUARD, 1975).

I. — *Performances globales des génotypes de trèfle violet* (monoculture + associations)

Nous appelons performance globale d'un génotype l'aptitude moyenne d'un trèfle à produire en condition de mélange et de culture pure.

Cet effet producteur doit être distingué de l'effet producteur moyen défini par GALLAIS (1970) et étudié au paragraphe suivant.

L'analyse montre que les performances globales diffèrent de façon hautement significative pour chacune des coupes et pour l'ensemble des trois coupes (tabl. 3).

La décomposition de l'effet montre que le niveau de consanguinité ne joue aucun rôle dans les différences des performances observées, sauf à la première coupe; et que les réponses des génotypes du deuxième groupe présentent beaucoup plus d'amplitude que celles des génotypes du premier groupe de consanguinité.

Le génotype est donc le facteur principal de la réponse du Trèfle.

Les différences entre les productions de trèfle en monocultures et en associations n'apparaissent pas significatives, à la deuxième coupe; les conditions environnementales auraient nivelé les réponses des partenaires en association à un niveau correspondant à une diminution voire à une suppression des relations de compétition (fig. 8 et 9).

TABLEAU 3

*Signification des productions de matière sèche du Trèfle violet*
*(Monocultures et associations)*

| | | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ | $C_1 + C_2 + C_3$ |
|---|---|---|---|---|---|
| Effet « performances globales » (Génotype trèfle) | | HS | HS | HS | HS |
| Décomposition de l'effet | Groupe I/Groupe II | S | NS | NS | NS |
| | Dans le Groupe I | S | HS | NS | HS |
| | Dans Groupe II | HS | HS | HS | HS |
| Effet « partenaire » (intensité de la concurrence) | | HS | NS(¹) | S | HS |
| Décomposition de l'effet | Présence/absence du ray grass | HS | NS | S | HS |
| | Cultivar R.G. | NS | S | S | HS |
| Interaction producteur × « partenaire » | | NS(¹) | NS | NS | S |

NS : non significatif au seuil 5 p. 100.
S : significatif au seuil 5 p. 100.
HS : significatif au seuil 1 p. 100.
Groupe I : 1 génération frère × sœur (génotypes 1, 2, 3, 4).
Groupe II : > 2 générations frère × sœur (génotypes 5, 6, 7, 8).

(¹) Significatif au seuil 10 %.

En qualité de partenaires, les cultivars « Tiara » et « Rina » se comportent de façon identique à la première coupe pour se différencier aux coupes suivantes. C'est en fait « Tiara » qui devient le plus agressif.

II. — *Performances de chaque constituant des associations* (sans les monocultures)

a) *Signification des paramètres génotypiques* (tabl. 4).

L'effet producteur moyen du trèfle ($\alpha t$) ne devient hautement significatif qu'à partir de la deuxième coupe. L'influence du génotype dans la réponse du trèfle ne se manifeste donc en culture associée qu'à partir de la deuxième coupe (tabl. 4 et fig. 2) alors qu'elle se manifeste dès la première coupe en monoculture (tabl. 3).

Nous remarquons que le niveau de consanguinité ne joue pas sur les performances des trèfles contrairement à ce qui se passe pour les monocultures (tabl. 3).

L'effet producteur ray grass est toujours significatif : ceci correspond à des performances en association de « Tiara » toujours supérieures à celles de « Rina ».

Enfin nous constatons que quel que soit le génotype associé, les performances moyennes du partenaire ray grass ($\beta t$) ne sont jamais significativement différentes.

TABLEAU 4

*Signification des paramètres $\alpha_t$, $\beta_r$, $\alpha_r$, $\beta_t$,*
*(Analyse conduite sans les monocultures)*

| | | | C₁ | C₂ | C₃ | C₁ + C₂ + C₃ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Producteur trèfle violet | Effet producteur moyen $\alpha_t$ . . . . | | NS(1) | HS | HS | HS |
| | Décomposition de l'effet | Groupe I /groupe II . . . . . | NS | NS | NS | NS |
| | | dans groupe I . | NS(1) | S | NS | HS |
| | | dans groupe II | NS(1) | HS | HS | HS |
| | Effet partenaire moyen $\beta_r$ . . . . | | NS | NS(1) | S | HS |
| | Interaction $\alpha_t \times \beta_r$ . . . . . . . | | NS | NS | NS | NS |
| Producteur ray grass d'Italie | Effet producteur moyen $\alpha_r$ . . . . | | S | S | S | HS |
| | Effet partenaire moyen $\beta_t$ . . . . | | NS | NS | NS | NS(1) |
| | Interaction $\alpha_r \times \beta_t$ . . . . . . . | | NS | NS | NS | NS |

NS : non significatif au seuil 5 p. 100.
S : significatif au seuil 5 p. 100.
HS : significatif au seuil 1 p. 100.

(1) Significatif à 10 %.

En conclusion, il semble que la production du Trèfle ne soit qu'une réponse d'origine génétique à l'intensité d'agressivité d'un ray grass. Dès lors, il est envisageable de trier les génotypes présentant la meilleure aptitude à la vie en association, qui dans le cas particulier de l'essai est plutôt une « aptitude à la résistance à l'agression ».

b) *Recherche des meilleurs comportements génotypiques*

Si nous considérons les résultats sommés des 3 coupes, il apparaît que les génotypes 1 et 6 sont les seuls à être favorisés et stimulants (fig. 3).

L'observation de l'évolution des paramètres $\alpha_t$ et $\beta_t$ d'une coupe à l'autre met en évidence la tendance du génotype 1 à conserver ces paramètres positifs (bien que faibles) avec une remarquable « stabilité » (fig. 4). Il n'en est pas de même du génotype 6 en général faiblement stimulant ou agressif, mais plutôt favorisé.

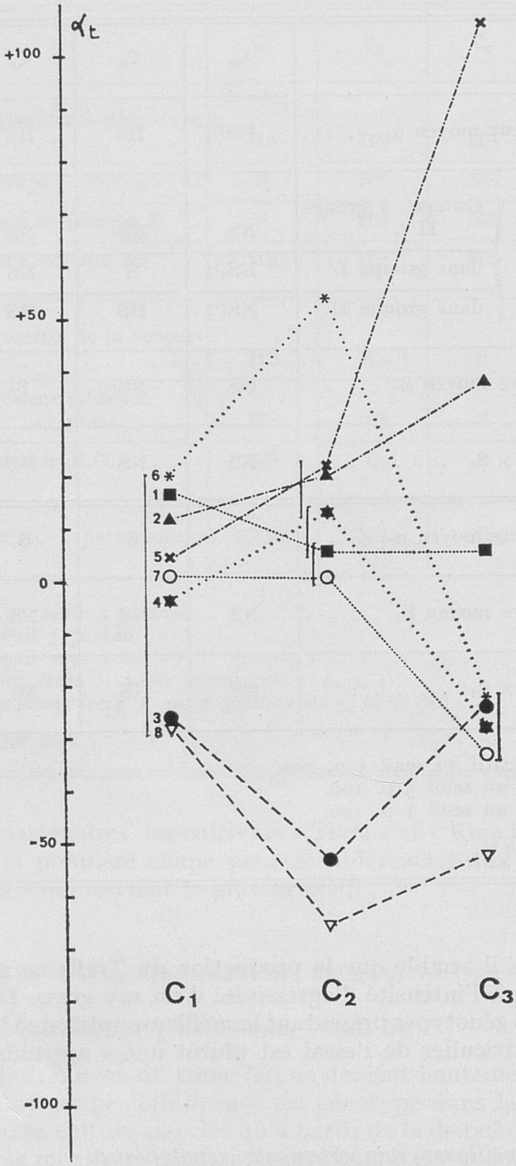



FIG. 2. — *Évolution de l'effet producteur trèfle (αt) de coupe en coupe (somme des quatre répétitions)*

Classement au seuil 1 p. 100 par le test de Newman et Keuls

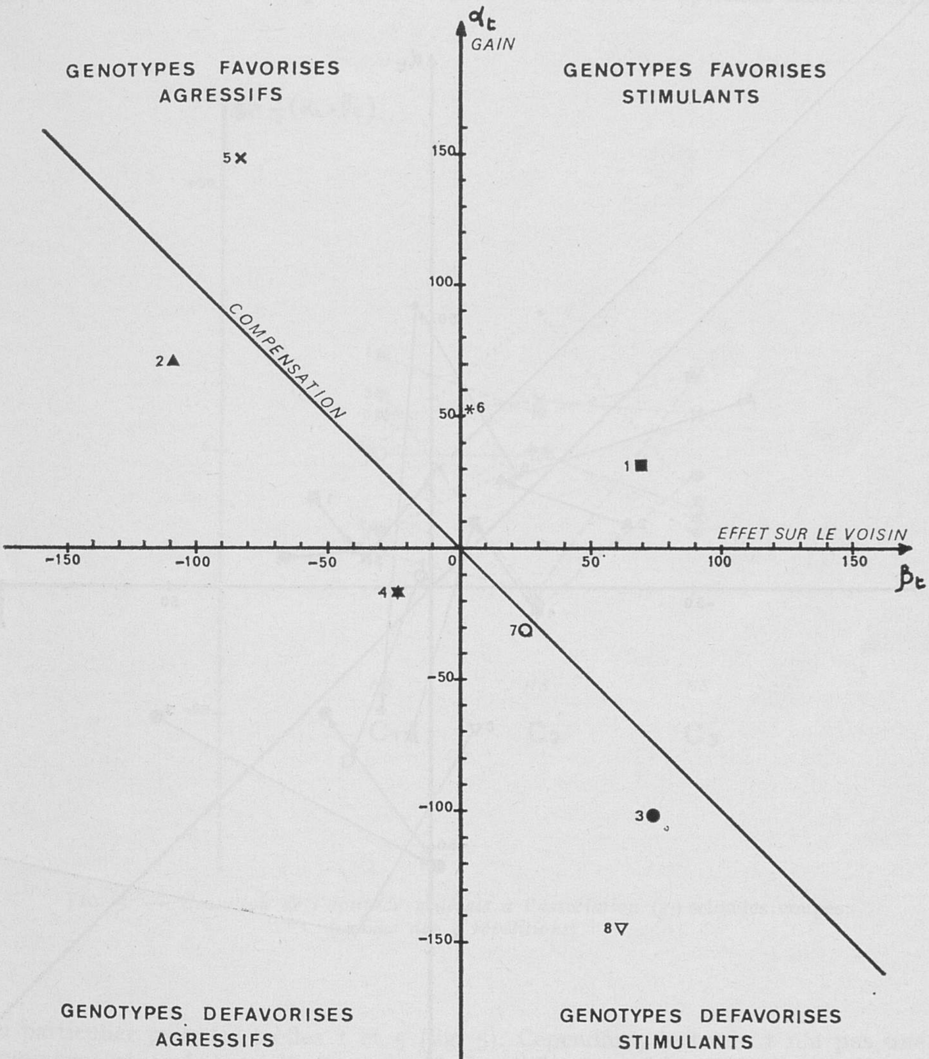



FIG. 3. — *Relations entre l'effet producteur (αt) et l'effet partenaire (βt) des génotypes de trèfle (somme des 3 coupes et des 4 répétitions)*

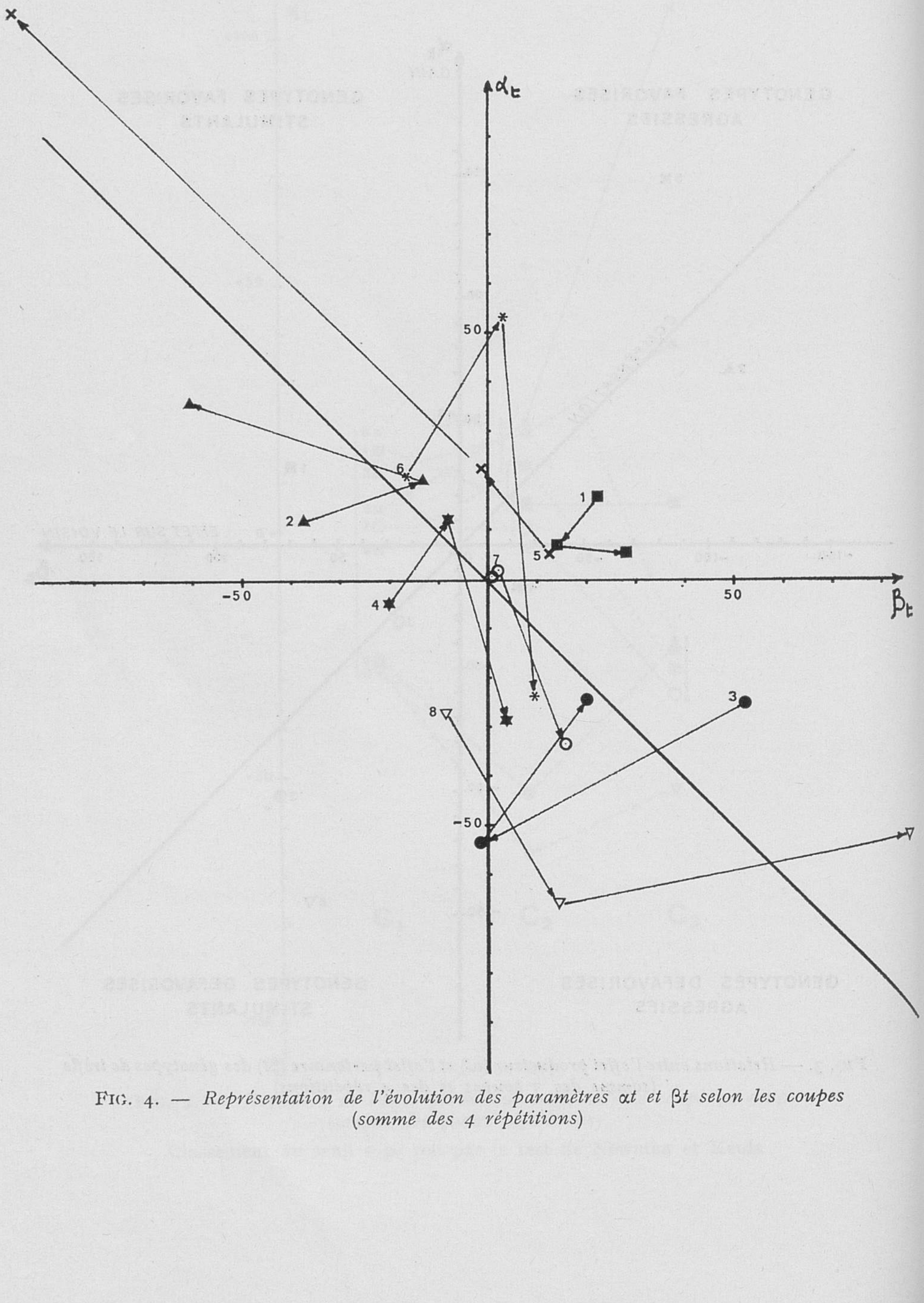



FIG. 4. — *Représentation de l'évolution des paramètres αt et βt selon les coupes (somme des 4 répétitions)*

Le cas du génotype 5 est particulier : il est régulièrement et de plus en plus favorisé et agressif, il est donc le seul à ne pas montrer d'oscillations de ses paramètres d'une coupe à l'autre.

Ces trois génotypes présentent l'intérêt d'avoir une bonne aptitude générale à la vie en association ainsi qu'une certaine stabilité de cette aptitude dans le temps

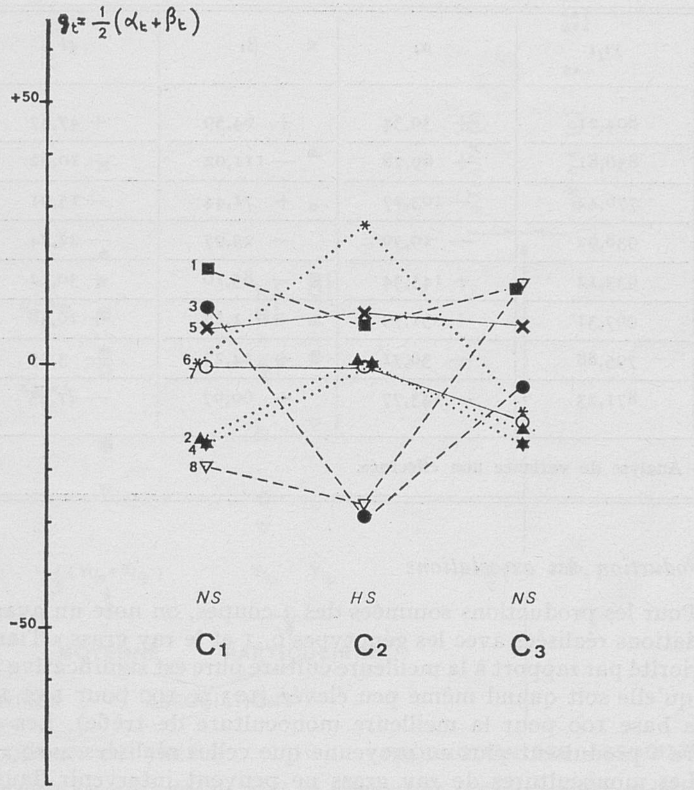



FIG. 5. — *Évolution de l'aptitude générale à l'association* ($g_t$) selon les coupes (*somme des 4 répétitions*)

en particulier pour les trèfles 1 et 5 (fig. 5). Cependant, le trèfle 1 n'a pas une dominance générale aussi élevée que celle du trèfle 5 ni même que celle du trèfle 6 (tabl. 5).

## III. — *Intérêt des associations par rapport aux cultures pures*

Un autre critère de tri sera une production de l'association élevée non seulement par rapport à son meilleur constituant en culture pure mais aussi et surtout par rapport à la meilleure culture pure testée.

TABLEAU 5

*Paramètres génotypiques*

(Pour l'ensemble des trois coupes et des quatre répétitions)

$yt/t$ = production du trèfle en culture pure ($yt/t = \frac{1}{2}\, ytt$)

$\alpha t$ = effet producteur moyen d'un génotype $t$ en présence des $r$ ray grass

$\beta t$ = effet partenaire moyen du génotype $t$ sur les $r$ ray grass

$gt = \frac{1}{2}(\alpha_t + \beta_t)$ = aptitude générale à la vie en association du génotype $t$

$ct = \frac{1}{2}(\alpha_t - \beta_t)$ dominance générale du génotype $t$.

| | $y_{t/t}$ | $\alpha_t$ | $\beta_t$ | $gt$ | $ct$(1) |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 804,21 | + 30,34 | + 64,59 | + 47,47 | — 17,12 |
| 2 | 856,81 | + 69,78 | — 111,02 | — 20,62 | + 90,40 |
| 3 | 776,42 | — 103,27 | + 71,44 | — 15,91 | — 87,36 |
| 4 | 938,92 | — 19,50 | — 25,97 | — 22,74 | + 3,23 |
| 5 | 933,12 | + 145,34 | — 85,10 | + 30,12 | + 115,22 |
| 6 | 967,31 | + 51,79 | + 1,17 | + 26,48 | + 25,31 |
| 7 | 795,88 | — 30,71 | + 24,22 | — 3,25 | — 27,47 |
| 8 | 871,23 | — 143,77 | + 60,67 | — 41,55 | — 102,22 |

(1) Analyse de variance non effectuée.

a) *Production des associations*

Pour les productions sommées des 3 coupes, on note un avantage certain des associations réalisées avec les génotypes 6, 1 et le ray grass « Tiara » (fig. 6). Cette supériorité par rapport à la meilleure culture pure est significative au seuil 2,5 p. 100 bien qu'elle soit quand même peu élevée (103 p. 100 pour 1 et 104 p. 100 pour 6 sur la base 100 pour la meilleure monoculture de trèfle). Les associations avec « Tiara » produisent plus en moyenne que celles réalisées avec « Rina ».

Les monocultures de ray grass ne peuvent intervenir dans la comparaison puisque faisant partie d'un essai qui bien que simultané et conduit dans les mêmes conditions était séparé du premier. Nous pouvons cependant préciser que leurs productions n'ont dépassé les monocultures de trèfle qu'à la 3e coupe, et que la production totale de l'essai pour chaque ray grass se situait en deçà de celle des monocultures de trèfle.

La deuxième coupe correspond à des conditions d'éclairement favorable à la croissance du Trèfle violet, cependant l'espèce n'a pas été aussi favorisée qu'on aurait pu le penser. Des conditions défavorables de parasitisme et de prédation ont agi différentiellement sur les deux espèces associées.

Comme nous le verrons plus loin, ceci aboutit à une situation de coopération dans certains cas d'associations (fig. 8 et 9).

La 3e coupe est favorable (baisse de l'éclairement) à la graminée ce qui donne des productions en monoculture de ray grass et des performances du ray grass en association bien supérieures à celles réalisées par la légumineuse.

Nous devons signaler que les associations des 3 génotypes retenus avec « Rina »

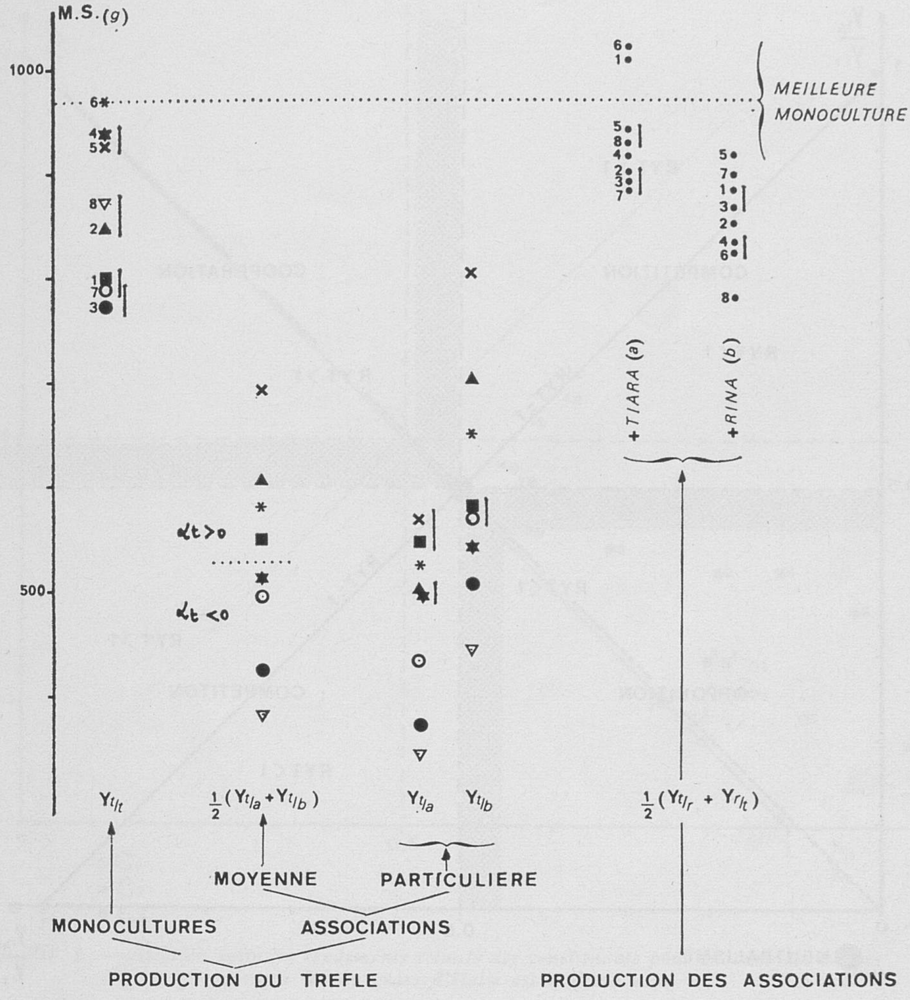



FIG. 6. — *Performances des génotypes de trèfle en monoculture et en association et performances des associations (somme des 3 coupes et des 4 répétitions)*

ont une amplitude de variation de leur production inférieure aux associations homologues avec « Tiara » selon les coupes. Le trèfle 6 plus sensible aux modifications de l'environnement que les génotypes 5 et 1 répercute cette sensibilité au niveau de ses associations.

b) *Étude des situations entraînées par l'effet d'association*

Si nous reportons les valeurs des rendements relatifs respectifs de chaque constituant dans un repère orthonormé (fig. 7), nous obtenons une représentation graphique des différentes situations selon la valeur de la somme des rendements

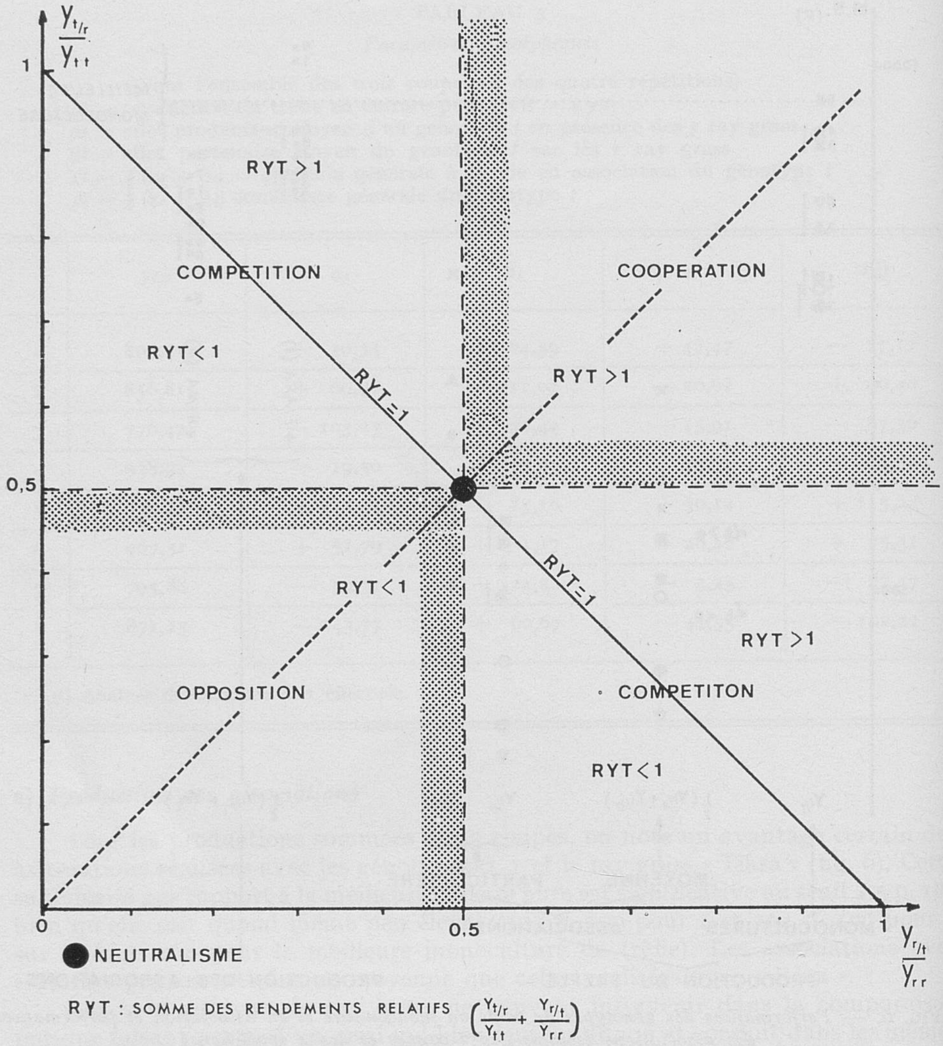



FIG. 7. — *Représentation des différentes situations entraînées par les effets de groupe sur la base de la somme des rendements relatifs*

relatifs $\left(\text{RYT} = \frac{y_{t/r}}{y_{tt}} + \frac{y_{r/t}}{y_{rr}}\right.$; de WIT *in* JACQUARD, 1975$\left.\right)$. En présence du ray grass « Tiara » (fig. 8), il y a presque toujours relation de compétition avec surcompensation au profit de celui-ci. Les associations avec « Rina » relèvent de situations variables allant de la coopération à la compétition avec souscompensation selon les coupes (fig. 9). Le total des trois coupes montre dans tous les cas d'association une relation de compétition avec surcompensation au profit des ray grass.

La représentation selon le modèle de de WIT (*in* JACQUARD, 1975) montre qu'avec les génotypes 1 et 5 l'association avec « Tiara » présente toujours un avan-

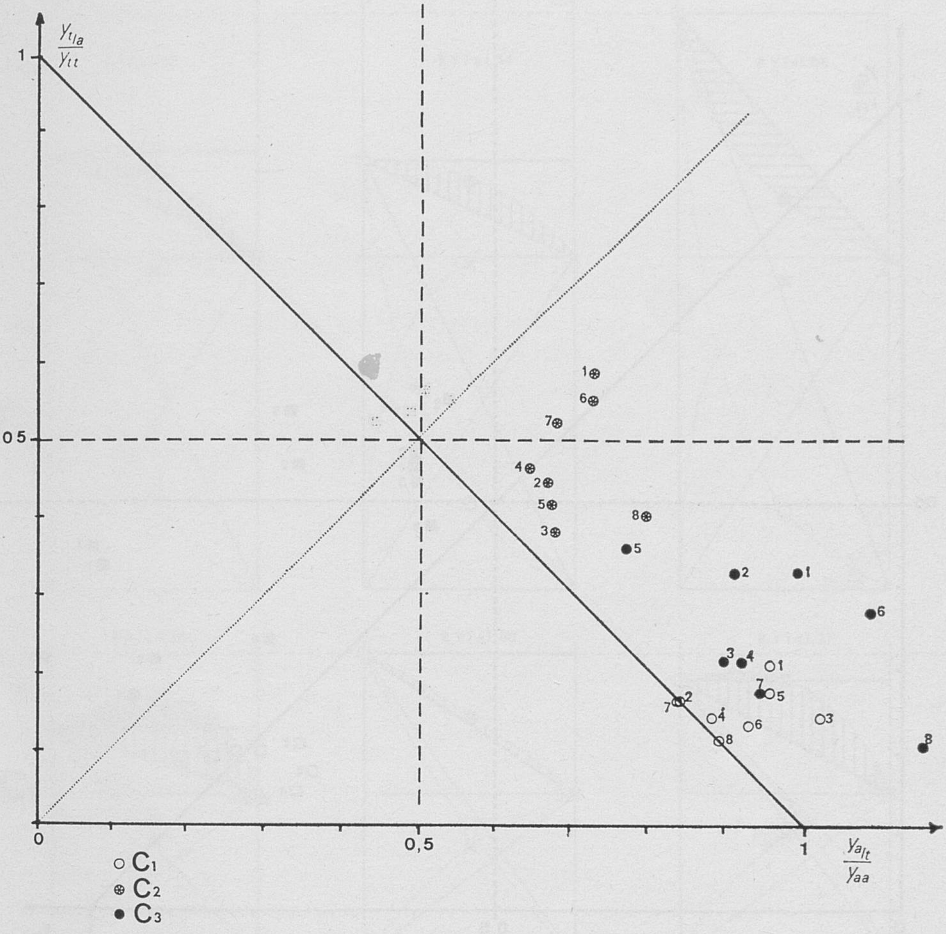



FIG. 8. — *Relation entre les rendements relatifs des constituants pour chacune des coupes lorsque le ray grass d'Italie est « Tiara » (a)*

tage par rapport au mélange théorique $\left(\frac{y_{tt} + y_{aa}}{2}\right)$ avec toutefois un avantage par rapport à son meilleur constituant apparaissant plus tôt pour l'association constituée entre « Tiara » et le génotype 1 (fig. 10).

A la première coupe, les productions des associations réalisées avec un même ray grass sont sensiblement identiques alors que celles des monocultures de trèfle diffèrent entre elles de façon hautement significative. Ainsi, le génotype 6 se distingue des génotypes 1 et 5 par une production en monoculture qui constitue le meilleur niveau absolu de la coupe (fig. 10).

A la deuxième coupe, bien que les productions des associations avec « Tiara » mais aussi avec « Rina » soient toutes inférieures à leur production en première coupe, nous remarquons une différenciation due presque essentiellement à une meilleure monoculture pour le génotype 5. Cette amélioration persiste à la troisième

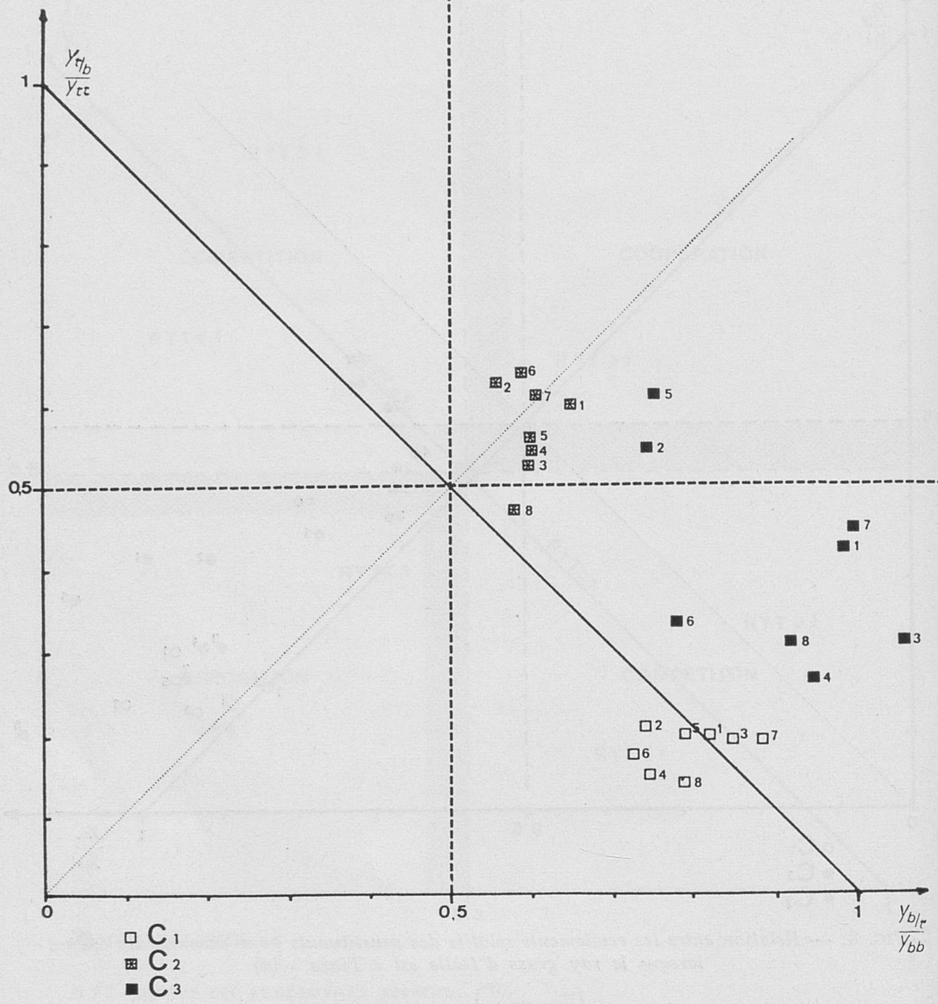



FIG. 9. — *Relation entre les rendements relatifs des constituants pour chacune des coupes lorsque le ray grass d'Italie est « Rina » (b)*

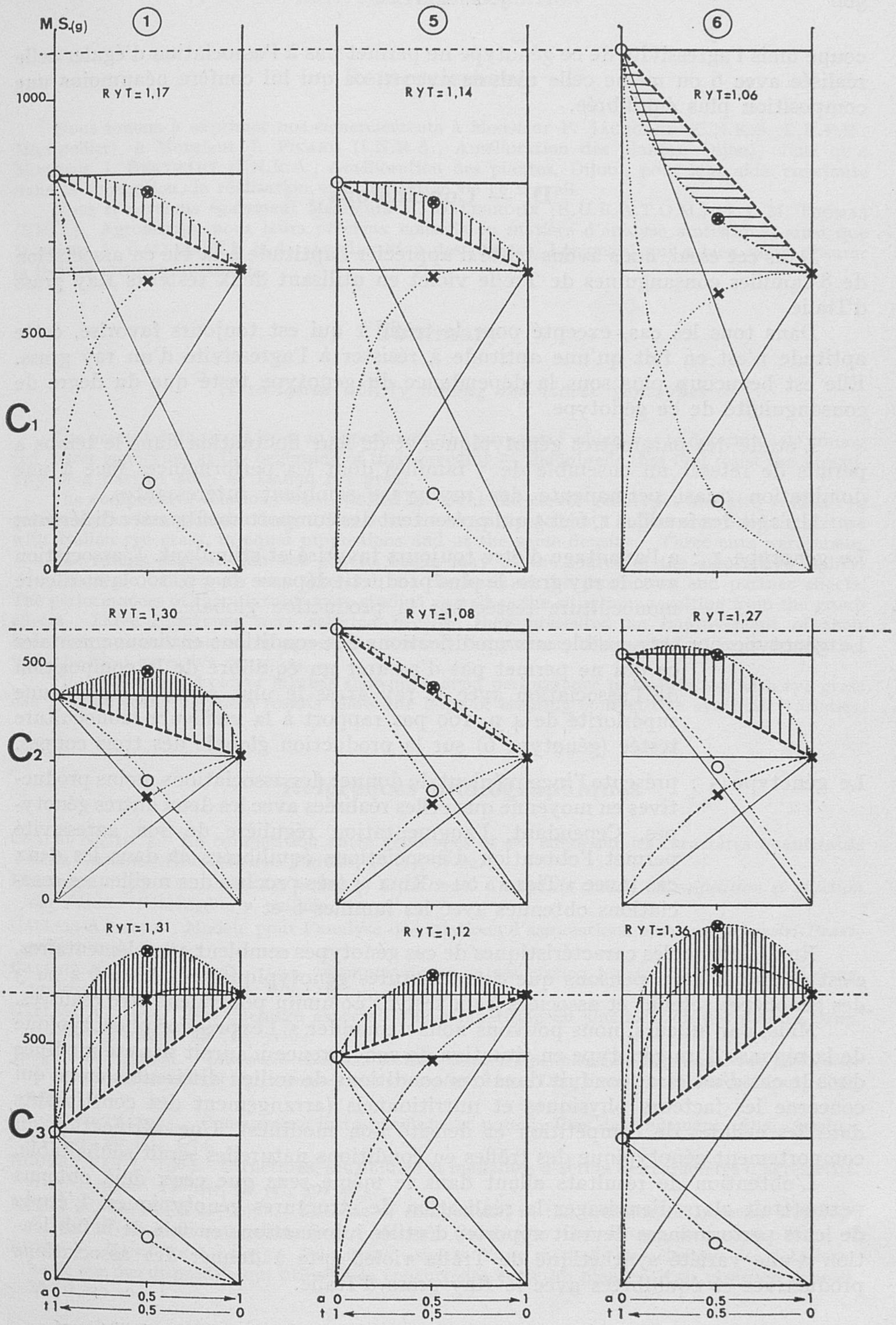
---

FIG. 10. — *Représentation (selon le modèle de de* WIT*) des résultats au niveau des associations où figurent les génotypes* 1, 5, 6, *et le ray grass « Tiara »* (*a*)

○ Trèfle violet
× Ray grass d'Italie
⊗ Association
Hachures horizontales : désavantage de l'association par rapport au mélange théorique

$$\frac{y_{tt} + y_{aa}{}^*}{2}$$

Hachures verticales : avantage de l'association par rapport au mélange théorique(*)
Hachures verticales serrées : avantage de l'association par rapport au meilleur constituant
_._._._._ Niveau de la meilleure culture pure testée qui se trouve être dans chaque cas le meilleur niveau absolu de la coupe.



M.S.(g)
1
5
6
1000
500
0
R Y T = 1,17
R Y T = 1,14
R Y T = 1,06
C1
R Y T = 1,30
R Y T = 1,08
R Y T = 1,27
500
0
C2
R Y T = 1,31
R Y T = 1,12
R Y T = 1,36
500
0
C3
a 0 0,5 1
t 1 0,5 0
a 0 0,5 1
t 1 0,5 0
a 0 0,5 1
t 1 0,5 0

coupe mais l'agressivité de ce génotype ne permet pas à l'association d'égaler celle réalisée avec 6 ou même celle réalisée avec 1, ce qui lui confère néanmoins une composition plus équilibrée.

## D. — Conclusions

Dans cet essai, nous avons tenté d'apprécier l'aptitude à la vie en association de 8 familles consanguines de Trèfle violet en utilisant deux testeurs Ray grass d'Italie.

Dans tous les cas, excepté pour le trèfle 1 qui est toujours favorisé, cette aptitude n'est en fait qu'une aptitude à résister à l'agressivité d'un ray grass. Elle est beaucoup plus sous la dépendance du génotype testé que du degré de consanguinité de ce génotype.

L'étude des paramètres génotypiques et de leur fluctuation dans le temps a permis de retenir un ensemble de 3 familles dont les performances face à une domination quasi permanente des ray grass semblent intéressantes.

Il s'agit des familles 1, 6 et 5 qui présentent des comportements assez différents:

Le génotype 1 : a l'avantage d'être toujours favorisé et stimulant. L'association avec le ray grass le plus productif dépasse de 3 p. 100 la meilleure monoculture testée sur la production globale.

Le génotype 6 : est sensible aux modifications des conditions environnementales ce qui ne permet pas d'assurer un équilibre de la composition de l'association avec le ray grass le plus agressif malgré une supériorité de 4 p. 100 par rapport à la meilleure monoculture testée (génotype 6) sur la production globale des trois coupes.

Le génotype 5 : présente l'inconvénient de donner des associations moins productives en moyenne que celles réalisées avec les deux autres génotypes. Cependant, l'augmentation régulière de son agressivité permet l'obtention d'associations équilibrées et dans les deux cas (avec « Tiara » ou « Rina ») très proches des meilleures associations obtenues avec les familles 6 et 1.

En définitive, les caractéristiques de ces génotypes semblent complémentaires, c'est pourquoi nous pensons que des structures génotypiques combinant 2 ou 3 des génotypes retenus et associées à un testeur commun pourraient être réalisées.

Mais, par ailleurs, nous pouvons nous demander si l'expression phénotypique de la réponse d'un génotype en situation de concurrence n'aurait pas été modifiée dans le cas d'un essai conduit dans des conditions de milieu différentes en ce qui concerne les facteurs physiques et nutritionnels (arrangement des constituants dans les cellules de compétition et densité non modifiés). Une vérification du comportement génotypique des trèfles en conditions naturelles serait souhaitable.

L'obtention de résultats allant dans le même sens que ceux déjà obtenus permettrait alors d'envisager la réalisation de structures génotypiques. L'étude de leurs performances devrait apporter d'utiles informations en vue de la fabrication d'une variété synthétique de Trèfle violet apte à donner des associations productives et équilibrées avec le Ray grass d'Italie.

*Reçu pour publication en juillet 1976*

## Remerciements

Nous tenons à exprimer nos remerciements à Monsieur P. JACQUARD (C.N.R.S. C.E.P.E., Montpellier), à Monsieur J. PICARD (I.N.R.A., Amélioration des plantes, Dijon), ainsi qu'à Monsieur J. BERTHAUT (I.N.R.A., Amélioration des plantes, Dijon), pour leur aide constante dans la conception, la réalisation et la rédaction de ce travail.

Nous remercions également Messieurs M. DALEBROUX (E.U.R.A.T.O.M.) et J. M. THOMAS (ENITA, Agronomie) pour leurs précieux conseils en matière d'analyse statistique, ainsi que Monsieur A. GALLAIS (I.N.R.A., Amélioration des plantes, Lusignan) qui a bien voulu assurer la lecture critique du texte.


## Summary


### *Associative ability among red clover genotypes*

The present data result from an experiment, the purpose of which was to determine — among red clover genotypes at the beginning of their breeding — the inbreds that best resist the agressivity of a partner such as Italian rye grass.

The competitive relations were studied for eight red clover genotypes and two Italian rye grass varieties in a split plot design. The clovers were cultivated both in pure stand and in mixture with Italian rye grass, in equal proportions and at the same density. Three cuts were made.

The results suggest that the genetic origin may be the source of the associative ability.

Genotypic behaviours were screened ont the basis of the production and partner effects. The performances of the mixtures were studied as well as the situations resulting from the group effects. Three genotypes were selected because they presented an improvement of their behaviour : stimulation of, or agressivity towards the partner, better yield when in association with the most agressive rye grass.

The choice of red clover inbreds showing a good performance in association with rye grass can thus be realized. These results allow the hope of creating competitive synthetic varieties.


## Références bibliographiques


CHALBI N., 1967. La compétition entre génotypes et ses effets sur les caractères quantitatifs de la Luzerne. *Ann. Amélior. Plantes*, **17** (1), 67-82.

EUCARPIA, 1973. *Glossaire des termes et définitions. Groupe de travail « Compétition et sélection des Plantes Fourragères »*, miméo, 33 p.

GALLAIS A., 1970. Modèle pour l'analyse des relations d'associations binaires. *Biométri-Praximétrie*, 2-3, 51-80.

GALLAIS A., ROUSVOAL D., 1973. Comportement en association binaire de cinq espèces d'une prairie permanente. *Œcol. Plant.* **8** (3), 279-300.

GALLAIS A., 1975. Sur quelques aspects de la compétition en amélioration des plantes. *Ann. Amélior. Plantes*, **25** (1), 51-64.

JACQUARD P., 1968. *Étude des relations sociales dans les peuplements végétaux : cas particulier de quelques graminées et légumineuses pluriannuelles*. Thèse Doc. Etat, Fac. Sciences Montpellier, 173.

JACQUARD P., 1975. Concurrence intraspécifique et potentialités de rendement. *Ann. Amélior. Plantes*, **25** (1), 3-24.

NGUYEN VAN J., 1969. Structures, sensibilités et modalités d'action des caractères d'agressivité. *Ann. Amélior. Plantes*, **19** (4), 391-403.

ROTILI P., ZANNONE L., 1971. The use of competition in the breeding of Lucerne. *Report of EUCARPIA*, Medicago sativa *Group Meeting. Quad. Sper. Ist. Forag., Lodi*, **3**, 41-86.

ROTILI P., ZANNONE L., 1975. Principaux aspects d'une méthode de sélection de la Luzerne basée sur des dispositifs qui utilisent la concurrence entre les plantes. *Ann. Amélior. Plantes*, **25** (1), 29-49.

# RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 29,7, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles *séparées* seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

*Au début de chaque mémoire*, on indiquera : — *le titre du mémoire* : il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes); — *le nom des auteurs*, précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de...; — *le nom de l'établissement*, dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

*Les mémoires* seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :
a) *résumé* (250 mots max.) suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine[1] c) *techniques expérimentales et matériel utilisé*, en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences; d) *résultats*, à présenter de la manière la plus brève possible; e) *discussion et conclusion*; f) *titre et résumé* en anglais ou destinés à être traduits en anglais comportant une analyse *complète* de l'articie; g) *remerciements* pour les collaborateurs, les fonds, les dons...; h) *références bibliographiques*.

*Les travaux originaux en anglais* doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français *très complet*. Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-tittrés en français.

*Pour les autres documents* (notes, mises au point, revues, rapports, etc.) l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

*Les références bibliographiques* doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (DUPONT et DUVAL, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier auteur sera mentionné, suivi de *et al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

*Pour les articles :* le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivis (s) des initiales du (des) prénom (s); la date de parution de l'article; le titre de l'article (dans la langue originole pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues menntionnées); le titre du périodi.ue en abrégé, selon la *World List of Scientific Periodicals*, ou le *Bulletin Signalétique du C. N. R. S.*; le volume, la première et la dernière page de l'article.

*Pour les ouvrages :* le nom de l'auteur avec les initiales du prénom; la date de l'édition; le tire complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traductiin du titre sera donnée entre parenthèses, avec mentioon de la langue d'origine); le volume; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant avx résultatts discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs; le nom de l'éditeur; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d' « Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

*Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part.* Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotstions distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux. Il est demandé aux auteurs de bien vouloir fournir une traduction anglaise des titres et contenus des tableaux, figures, photographies etc...

*Le titre courant* pour les hauts de page devra être fourni en 40 signes au maximum.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

*Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils* seront envoyés soit *à l'état définitif* soit *à l'état de projets*, leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I. N. R. A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : *soit* × 0,5, *soit* × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des *Annales* est : 12,5 × 19 cm; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

*Photographies :* Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos : 9 × 12; 4 photos : 9 × 5,5; 6 photos : 5,5 × 5,5. Dans ce cas chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Il est demandé d'indiquer sur le manuscrit, dans la marge, en regard du texte, l'emplacement souhaité des tableaux et figures.

*Envoi du manuscrit :* M. RIVES, Centre national de Recherches zootechniques, 78350 Jouy-en-Josas, France. On demande deux exemplaires.

*Correction des épreuves :* les épreuves que les auteurs recevront à corriger sont à retourner, après correction, à cette même adresse.



INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

*Le Directeur de la publication :* M.-L. Cagnac

FD Imprimerie Alençonnaise, rue Édouard Belin, 61002 Alençon

*Dépôt légal : 3e trimestre 1977. No d'impression : 84.556*

CPPAP no 26633

# annales de l'amélioration des plantes

Bimestriel

1977

Vol. 27. N° 4

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs
et de l'Institut national de la Recherche agronomique
à l'exception des résumés

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE
I. N. R. A.
Centre de Recherches de RENNES
STATION D'AMÉLIORATION DES PLANTES
B.P. 29 - 35650 LE RHEU
Tél. : (99) 00.71.92

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (4), 389-410.

# Relations entre productivité, qualité du grain et activité nitrate réductase chez les céréales

A. BOYAT et P. ROBIN *

avec la collaboration technique de Denise BLAYAC* et J.-P. ODON*

*Station d'Amélioration des Plantes,*
*Centre de Recherches agronomiques de Montpellier, I.N.R.A.,*
** Laboratoire de Biochimie et Physiologie végétale,*
*Centre de Recherches agronomiques de Montpellier, I.N.R.A.,*
*(Équipe de Recherche Associée au C.N.R.S. :*
*Structures cellulaires et Absorption des Ions minéraux)*
*École nationale supérieure agronomique*
34060 *Montpellier Cedex*

## Résumé

Les relations entre l'activité de l'enzyme nitrate réductase et la productivité ou la qualité du grain chez les céréales, sont l'objet de nombreuses études en raison de la position-clé de cette enzyme dans le métabolisme azoté. Les principaux facteurs externes qui interviennent dans le contrôle de cette activité sont : les nitrates, la lumière, l'eau et, éventuellement, certains oligo-éléments et produits phytosanitaires. La génétique de ce caractère commence à être connue. De nombreux auteurs ont signalé l'utilisation possible en sélection des liaisons qui existent entre l'activité nitrate réductase de la plante et des caractères agronomiques importants comme la productivité ou la teneur en protéines du grain.

Par utilisation d'une technique de dosage *in vitro*, trois groupes de lignées de maïs : courantes, prolifiques en épis, et à haute teneur en protéines du grain, sont comparées pour leur activité nitrate réductase au stade « plantule ». Il apparaît une assez large variabilité entre lignées pour ce caractère. Le sous-groupe de lignées prolifiques sélectionnées pour une forte prolificité en épis présente une activité enzymatique supérieure à celle des lignées courantes ou à haute teneur en protéines du grain.

## Introduction

La recherche d'une productivité toujours plus élevée est depuis longtemps l'un des objectifs essentiels de la création variétale. Mais, ce caractère en lui-même est trop complexe pour être sélectionné comme un tout; il devient alors utile d'analyser les phénomènes en cause et de les aborder par des critères simples. Dans la suite des réactions biochimiques qui transforment l'énergie solaire perçue par

la plante en matière végétale, l'étape de réduction des nitrates est d'une grande importance. En effet, cette enzyme qui ouvre la voie du métabolisme de l'azote minéral est soumise à un contrôle étroit de plusieurs facteurs du milieu : lumière, eau, nitrate, etc. Elle se trouve donc à une étape limitante des synthèses protéiques et, par conséquent, de la productivité.

Parmi les autres objectifs de sélection, la « qualité technologique » prend une place de plus en plus importante. La création de véritables panoplies de variétés aux caractéristiques différentes devient nécessaire. Parmi celles-ci, les variétés à haute teneur en protéines du grain tiennent une place de choix. Pour cet objectif, l'étude de l'activité nitrate réductase (ANR) devrait permettre une meilleure connaissance et, par conséquent, une meilleure exploitation du matériel.

## I. — Revue bibliographique

### A. — *Nitrates et activité nitrate réductase* (*A.N.R.*)

Les quantités croissantes de fumure azotée apportées au sol sont, sans conteste, un des facteurs essentiels des augmentations annuelles de rendement observées chez les céréales. La majeure partie de l'azote utilisé l'est sous forme de nitrates, car cette forme est la plus rapidement consommée par la plante, les formes ammoniacales étant essentiellement transformées par les microorganismes avant leur entrée dans la plante.

BLANC (1958, 1961, 1963) observe en culture sur sable qu'une élévation de la teneur en nitrates de la solution nutritive provoque une augmentation de la matière verte formée. Cependant des concentrations en ions nitriques dépassant un seuil critique, variable suivant les espèces, ont une action dépressive sur le rendement et s'accompagnent d'un accroissement rapide de la teneur en nitrates des tissus. Une des hypothèses explicatives pourrait être le pouvoir réducteur limité de la plante. Lorsque la teneur en azote nitrique n'est pas limitante, il est alors possible de remplacer une fraction de celui-ci par de l'azote ammoniacal — de l'ordre de 20 p. 100 — le rendement en matière sèche est alors maximum et supérieur au rendement obtenu avec des nitrates seuls.

Des études récentes ont montré toutefois que l'ion ammonium pouvait être absorbé directement par les plantules de maïs fournissant jusqu'à 95 p. 100 de l'azote de la plante, en présence d'un inhibiteur de la nitrification (DIBB et WELCH, 1976). En alimentation mixte : $NH_4^+$ et $NO_3^-$, les plantules absorbent les deux ions au même taux, mais une augmentation de la concentration de l'un des deux ions favorise son absorption (WARNCKE et BARBER, 1973). L'absorption des nitrates n'est donc pas retardée par la présence de l'ion ammonium, mais les formes d'utilisation diffèrent : l'ion $NH_4^+$ est utilisé très rapidement dans les synthèses, de préférence aux nitrates, alors que ces derniers s'accumulent dans les parties aériennes des plantes avant d'être réduits par l'enzyme nitrate réductase (SCHRADER *et al.*, 1972).

Il existe donc chez la plantule de maïs deux voies d'utilisation de l'azote. L'une utilisant l'ion ammonium et l'incorporant dans les acides aminés très rapidement, c'est une voie économique mais rigide; l'autre utilisant l'ion nitrate qui peut être stocké, mais doit être réduit sous forme ammoniacale avant son incorporation dans les acides aminés, c'est une voie moins économique mais souple. La « voie des nitrates » est prépondérante chez le maïs au stade adulte. La séquence de réduction est réalisée par deux enzymes : la nitrate réductase ($NO_3^- \rightarrow NO_2^-$)

et la nitrite réductase ($NO_2^- \rightarrow NH_4^+$). La première enzyme, localisée dans le cytoplasme, est soumise à une régulation complexe et, par là, détient une position-clé dans le métabolisme azoté de la plante et à terme pour le rendement de la culture soumise à de fortes fumures azotées (HAGEMAN *et al.*, 1967). L'enzyme commence à être assez bien connue (HEWITT et NICHOLAS, 1964; BEEVERS et HAGEMAN, 1969, 1972; HEWITT, 1975) et, parmi ses propriétés essentielles, on doit surtout noter qu'elle est inductible par son substrat : l'ion nitrate (CHAMPIGNY M. L., 1963; AFRIDI et HEWITT, 1964; BEEVERS *et al.*, 1965).

Or, les nitrates peuvent s'accumuler jusqu'à de hautes teneurs (de l'ordre de 5 000 µg/g de matière fraîche) dans les feuilles de maïs, apparemment sans risque pour la plante (HAGEMAN *et al.*, 1967). Les nitrites, par contre, ne s'accumulent jamais dans les feuilles, ou du moins n'excèdent pas 1 µg de $NO_2^-$ par gramme de matière fraîche. L'ion ammonium non plus ne s'accumule pas dans les tissus, car il est rapidement incorporé dans le glutamate ou dans les amides (HAGEMAN *et al.*, 1967).

Il est cependant important de noter que dans la cellule du végétal, la répartition des ions nitrates n'est pas homogène, car il existe au moins deux fractions distinctes par leur répartition spatiale et par leur fonction (HEIMER et FILNER, 1971; JACKSON *et al.*, 1973) : l'une ayant part au contrôle du niveau d'ANR (fraction inductive) et l'autre constituant la source de substrat (fraction stockée). Des travaux sur racines de blé intactes (JACKSON *et al.*, 1973) et sur des cellules de cals de tabac (HEIMER et FILNER, 1971) laissent penser que la fraction inductive dépend du flux de nitrates traversant la cellule, alors que la fraction stockée, la plus importante, n'est que difficilement transportée hors de la cellule.

C'est donc sur les ions nitrates et par une action sur l'enzyme nitrate réductase que s'opère le contrôle de l'entrée de l'azote dans la plante.

### B. — *Lumière et activité nitrate réductase*

Le Maïs, originaire des régions subtropicales, est une plante connue pour ses grandes exigences en lumière (HESKETH et MUSGRAVE, 1962) et, par conséquent, sensible à la densité de peuplement. DUNCAN (1958) montre, en effet, que le rendement en grain par plante, exprimé en log, décroît linéairement lorsque la densité de peuplement augmente, et cela quel que soit le niveau de fumure azotée du sol.

Cependant, cette sensibilité est variable suivant les génotypes et de nombreux essais ont montré des différences variétales importantes (STINSON et MOSS, 1960; MOSS et STINSON, 1961; PRINE, 1961; EARLEY *et al.*, 1966, 1967). C'est le cas en particulier de l'hybride WF 9 × C 103 beaucoup plus sensible à l'ombrage mutuel des plantes que l'hybride Hy 2 × Oh 7 (LANG *et al.*, 1956 : tabl. 1). Des résultats tout à fait analogues ont été obtenus en réduisant artificiellement l'éclairement par des tentes à ombrage (EARLEY *et al.*, 1967 : tabl. 2).

Que l'ombrage soit naturel ou artificiel, un faible éclairement provoque une baisse de fixation du gaz carbonique (MOSS *et al.*, 1961; HESKETH et MUSGRAVE, 1962) qui se traduit par une diminution de la teneur en sucres de la plante et de la matière sèche formée, d'où une baisse de productivité. Cependant, le métabolisme glucidique n'est pas le seul affecté, car un ombrage progressif provoque une accumulation de nitrates dans la plante, ainsi qu'une diminution proportionnelle de l'ANR foliaire (HAGEMAN et FLESHER, 1960), activité qui est restaurée par un retour à la lumière. De même, sur une période de vingt-quatre heures, cette activité décroît à l'obscurité et augmente au cours de la période lumineuse (HAGEMAN *et al.*, 1961).

TABLEAU 1

*Rendement comparé de deux hybrides à des densités de peuplement croissantes*
(LANG *et al.*, 1956)

| Nombre de plantes par hectare | Rendement (q/ha) | |
|---|---|---|
| | Hy 2 × Oh 7 | WF 9 × C 103 |
| 10 000 | 29,8 | 31,8 |
| 20 000 | 48,9 | 50,6 |
| 30 000 | 59,0 | **53,3** |
| 40 000 | 64,0 | 51,4 |
| 50 000 | **67,1** | 46,5 |
| 60 000 | 60,3 | 36,2 |

TABLEAU 2

*Production en matière sèche dans le grain et dans la plante de deux hybrides soumis à un ombrage artificiel*
(EARLEY *et al.*, 1967)

| p. 100 d'ombrage imposé pendant 21 jours au cours de la période reproductive | Hy 2 × Oh 41 | | WF 9 × C 103 | |
|---|---|---|---|---|
| | matière sèche du grain (g) | matière sèche de la plante sans le grain (g) | matière sèche du grain (g) | matière sèche de la plante sans le grain (g) |
| 0 | 183 | 216 | 245 | 293 |
| 30 | 190 | 216 | 235 | 274 |
| 40 | 143 | 208 | 128 | 263 |
| 70 | 87 | 204 | 63 | 269 |
| 80 | 35 | 189 | 17 | 284 |
| 90 | 0 | 178 | 4 | 211 |

Le métabolisme de l'azote et celui des glucides sont interdépendants au moins à deux niveaux : le métabolisme glucidique est générateur d'acides α-cétoniques nécessaires à la synthèse des acides aminés et il fournit, d'autre part, le pouvoir réducteur nécessaire à la transformation des nitrates. KNIPMEYER *et al.* (1962) ont montré que chez les plantes soumises à ombrage, l'acide citrique précurseur des acides α-cétoniques n'est pas un facteur limitant de la réduction. En ce qui concerne le pouvoir réducteur, c'est essentiellement le NADH qui est donneur d'électrons pour la réduction du nitrate dans le cytoplasme (HAGEMAN et HUCKLESBY, 1971) et la ferredoxine pour la réduction de l'ion nitrite en ion ammonium dans les chloroplastes (JOY et HAGEMAN, 1966). Si la ferredoxine réduite est un des premiers produits de la photosynthèse, le NADH est fourni par la dégradation

des sucres phosphorylés issus de la photosynthèse, ayant traversé les parois des chloroplastes (BEEVERS et HAGEMAN, 1972). C'est donc par un contrôle de la quantité de NADH disponible que pourrait s'effectuer l'influence indirecte de la lumière sur la réduction des nitrates (fig. 1).

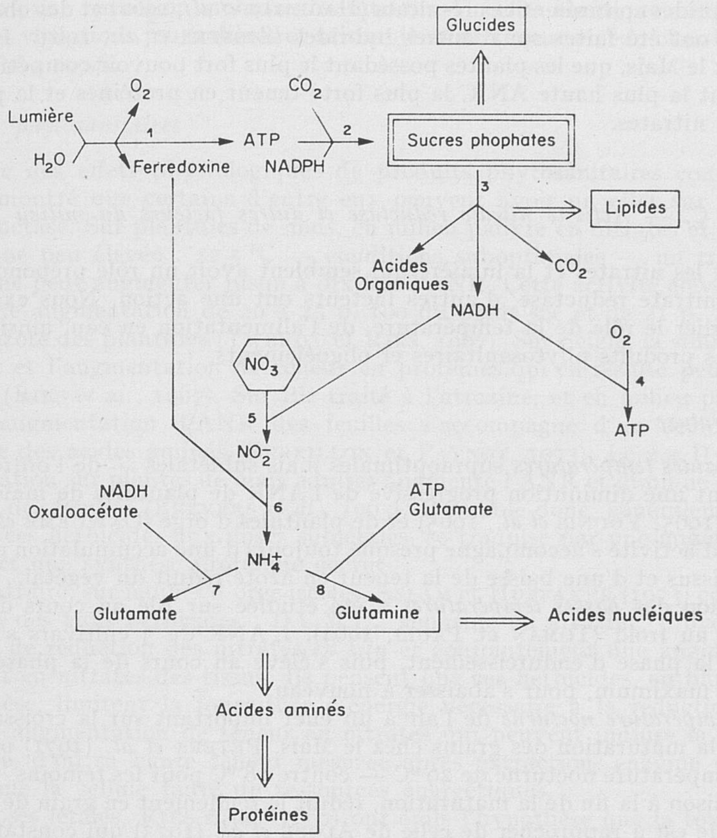



FIG. 1. — *Schématisation des principales liaisons entre métabolisme glucidique et métabolisme azoté pour la réduction des nitrates*

1 : Photosynthèse
2 : Cycle des pentoses
3 : Glycolyse + Cycle de Krebs
4 : Chaîne respiratoire
5 : Nitrate réductase
6 : Nitrite réductase
7 : Glutamate déshydrogenase
8 : Glutamine synthétase

L'éclairement a donc un effet important sur la réduction des nitrates, par la fourniture de sucres générateurs de NADH. D'autre part, un effet direct de la lumière sur la synthèse de l'enzyme nitrate réductase a été mis en évidence (HAGEMAN et FLESHER, 1960). Il ferait intervenir un phytochrome (JONES et SHEARD, 1975; JOHNSON, 1976).

Enfin, la lumière pourrait augmenter l'ANR dans un tissu en favorisant l'accession des nitrates au site de réduction (BEEVERS et HAGEMAN, 1972). En particulier dans les jeunes plantules de maïs, la lumière augmente l'aptitude de l'enzyme à être induite par les nitrates (BEEVERS *et al.*, 1965).

L'effet global de la lumière sur l'ANR apparaît donc d'autant plus important que cette activité enzymatique est en corrélation positive avec le taux de croissance du végétal et sa teneur en protéines. On constate que l'hybride Hy 2 × Oh 7, tolérant aux fortes densités, possède une ANR et une teneur en protéines plus élevées que l'hybride WF 9 × C 103. Des mesures d'ANR effectuées au champ sur ces hybrides confirment ces résultats (HAGEMAN *et al.*, 1961) et des observations analogues ont été faites sur d'autres hybrides (ZIESERL *et al.*, 1963). Il apparaît donc, chez le Maïs, que les plantes possédant le plus fort pouvoir compétitif pour la lumière ont la plus haute ANR, la plus forte teneur en protéines et la plus faible teneur en nitrates.

### C. — *Activité nitrate réductase et autres facteurs du milieu*

Outre les nitrates et la lumière qui semblent avoir un rôle prépondérant sur l'activité nitrate réductase, d'autres facteurs ont une action. Nous examinerons en particulier le rôle de la température, de l'alimentation en eau, ainsi que celui de certains produits phytosanitaires et oligoéléments.

#### 1. *Température*

*Les hautes températures* supraoptimales mais sublétales — de l'ordre de 40 °C — amènent une diminution progressive de l'ANR de plantules de maïs (MATTAS et PAULI, 1965; YOUNIS *et al.*, 1965) et de plantules d'orge (ONWUEME *et al.*,1971). La baisse d'activité s'accompagne presque toujours d'une accumulation de nitrates dans les tissus et d'une baisse de la teneur en azote réduit du végétal.

L'action des *basses températures* a été étudiée sur Blé au cours de l'endurcissement au froid (TOMAN et PAULI, 1964). L'ANR de 3 cultivars s'abaisse au début de la phase d'endurcissement, puis s'élève au cours de la phase d'endurcissement maximum, pour s'abaisser à nouveau.

La *température nocturne* de l'air a un effet important sur la croissance de la plante et la maturation des grains chez le Maïs. PETERS *et al.* (1971) ont montré qu'une température nocturne de 29 °C — contre 18 °C pour les témoins — imposée de la floraison à la fin de la maturation, réduit le rendement en grain de 40 p. 100. Cette étude est à rapprocher de celle de ALOFE *et al.* (1973) qui constatent qu'en phytotron, avec une température diurne élevée : 35 °C, et trois températures nocturnes : 24, 16, 7 °C, la baisse nocturne d'ANR est la plus importante à 24 °C et la plus faible à 7 °C. De plus, ces différentes températures nocturnes modifient différemment, suivant les génotypes, l'évolution de l'ANR au cours des 30 premiers jours de la croissance. La lignée A 632 est, des quatre lignées étudiées, celle qui maintient la plus haute ANR avec des températures nocturnes élevées; c'est d'autre part une lignée de très bonne valeur en combinaison hybride pour la productivité en grain.

#### 2. *Alimentation en eau*

Conjointement à la température, la teneur en eau peut jouer un rôle dans le contrôle de l'ANR. Toute modification, dans le sens d'une baisse de la teneur en eau de plantules de maïs, se traduit par une diminution d'ANR et une augmentation de la teneur en nitrates (MATTAS et PAULI, 1965; YOUNIS *et al.*, 1965). De manière plus précise, cette activité diminue dès que le potentiel en eau de la feuille descend

en-dessous de — 2 bars, le potentiel normal des témoins étant compris entre — 1,0 et — 1,8 bar, et à — 13 bars cette activité n'est plus que de 25 p. 100 de celle des témoins (MORILLA *et al.*, 1973). Conjointement à la baisse du potentiel en eau, le contenu en polyribosomes des cellules diminue avant même que l'ANR ne décroisse. Cet abaissement affecte l'ANR par une diminution de la synthèse enzymatique d'où une réduction moindre des nitrates. Un effet identique a été observé au cours des variations journalières et saisonnières de teneur en eau chez le Sorgho (TEARE *et al.*, 1974).

3. *Produits phytosanitaires*

L'étude des effets physiologiques de produits phytosanitaires couramment utilisés, a montré que certains d'entre eux peuvent avoir un effet sur l'activité nitrate réductase. Sur plantules de maïs, en milieu pauvre en nitrates et à température diurne peu élevée : 22,5 °C — conditions suboptimales — un traitement à la simazine peut augmenter jusqu'à dix fois l'ANR. Cette activité élevée se traduit par une augmentation de 20 à 25 p. 100 du poids sec et de 21 p. 100 de la teneur en azote des plantules (TWEEDY et RIES, 1967). Sur Seigle, la simazine a le même effet et l'augmentation de teneur en protéines qui en résulte peut être de 79 p. 100! (RIES *et al.*, 1967). Sur Blé traité à l'atrazine, et en milieu pauvre en nitrates, l'augmentation d'ANR des feuilles s'accompagne d'un accroissement de synthèse des acides aminés (TERRILLON et PAYNOT, 1973). Le 2,4 D appliqué en pulvérisation sur plantes de maïs adultes augmente l'ANR et diminue la teneur en nitrates des feuilles (BEEVERS *et al.*, 1963). Il semble donc, généralement, que l'action de ces herbicides aux doses sublétales, se traduise par une augmentation de l'ANR et une synthèse protéique accrue.

Au contraire, sur feuilles d'orge isolées, ASLAM et HUFFAKER (1973) constatent que chacun des trois herbicides : D.C.M.U., simazine ou atrazine, provoque une diminution de réduction des nitrates *in situ* et conjointement une augmentation de la teneur en nitrates des tissus. Ils pensent que ces herbicides, en bloquant la photosynthèse, limitent la fourniture d'énergie nécessaire à la réduction. Il en résulte une augmentation de teneur en nitrates qui peuvent induire la synthèse de l'enzyme, d'où sa haute teneur mesurée après extraction, enzyme qui reste inactive dans la cellule faute de ressources énergétiques.

Aus doses létales, RIES *et al.* (1967) ont émis l'hypothèse que la toxicité des triazines pourrait résulter d'un excès de production de nitrites ou d'ammonium dans la plante.

4. *Oligoéléments*

Le molybdène étant le constituant métallique de la nitrate réductase (AFRIDI et HEWITT, 1964; NOTTON et HEWITT, 1971) des carences en molybdène sont susceptibles d'être la cause d'une faible activité nitrate réductase et, par là, d'une accumulation de nitrates dans les tissus (BLONDEL et BLANC, 1975).

### D. — *Génétique et variabilité du caractère activité nitrate réductase*

Les premiers dosages d'activité enzymatique de plantules de maïs ont porté sur les lignées parentales des deux hybrides déjà cités : Hy 2 × Oh 7 et WF 9 × C 103. Il est apparu que les lignées C 103, Oh 7 et Hy 2 présentent sensiblement

la même ANR, alors que celle de WF 9 est moitié moindre (ZIESERL et HAGEMAN, 1962). D'autres dosages effectués sur les principales lignées du Corn Belt (ZIESERL et HAGEMAN, 1963; ZIESERL *et al.*, 1963) ont fait apparaître une grande amplitude dans la variabilité des activités mesurées allant de 1 à 5 et des variations d'une année sur l'autre. Toutefois sur deux ans, le classement des lignées est pratiquement identique. D'autre part, la comparaison des lignées par classe d'activité reflète bien les liens de parenté existant entre lignées. Le contrôle génétique de cette activité enzymatique est bien confirmé.

La recherche d'une activité enzymatique hétérotique a été entreprise, mais n'a pu être mise en évidence par ZIESERL et HAGEMAN (1962). SCHRADER *et al.* (1966) ont comparé de manière plus approfondie des lignées et leurs hybrides. Ils ont classé des lignées en deux groupes pour leur activité enzymatique : basse (B) et haute (H) et ont mesuré l'ANR saisonnière des trois types d'hybrides : H × H, H × B et B × B. Tous les hybrides des groupes H × H et H × B présentent une ANR intermédiaire entre celle des parents et, dans le groupe B × B, deux hybrides : B 14 × Oh 43 et Hy 2 × B 14 montrent une ANR avec hétérosis. De même, FORTINI *et al.* (1975) ne trouvent d'hétérosis significatif que pour des croisements dans lesquels entre un parent de faible ou moyenne ANR. L'ensemble des hybrides étudiés possède un très net hétérosis pour la croissance végétative et le rendement en grain; un hétérosis pour l'ANR ne semble donc pas indispensable à l'expression d'un « hétérosis agronomique », bien que cette activité enzymatique soit un des facteurs conditionnant la vigueur et l'aptitude au rendement (HAGEMAN *et al.*, 1967).

A la question de savoir si les différences d'ANR observées résultent de variations dans la quantité d'enzyme ou dans sa nature (isoenzymes), il est difficile de répondre en raison de l'extrême instabilité de l'enzyme. La mise en évidence de différences d'ordre qualitatif nécessite une purification enzymatique poussée qui n'a pas pu être effectuée. Seules les observations électrophorétiques de UPCROFT et DONE (1974) semblent montrer qu'il n'y aurait qu'une seule forme enzymatique pour la nitrate réductase, confirmant ainsi l'hypothèse émise par HAGEMAN *et al.* en 1967.

L'hybride $F_1$ : B 14 × Oh 43 présente un hétérosis pour l'ANR; WARNER *et al.* (1969) ont entrepris l'étude génétique de ce caractère. Par les dosages de l'ANR des lignées parentales, des $F_1$, $F_2$, $F_3$, $F_4$ et des $F_1$ croisées par chacun des parents, ces auteurs ont montré que l'ANR des deux lignées B 14 et Oh 43 est gouvernée par deux gènes. Chacune des deux lignées est homozygote pour un allèle partiellement à totalement dominant à l'un des locus, et homozygote pour l'allèle récessif à l'autre locus. Ces auteurs en concluent que ce seraient les taux de synthèse et de dégradation de l'enzyme qui, par leur action conjuguée, pourraient régler le niveau enzymatique global de la plante. Le niveau hétérotique d'activité enzymatique de l'hybride $F_1$ ne serait donc qu'un taux intermédiaire résultant de la synthèse et de la dénaturation de l'enzyme.

L'enzyme nitrate réductase étant inductible par le substrat, les deux gènes trouvés pourraient appartenir à un système de régulation du type inducteur-répresseur, avec un gène de régulation sensible au substrat et un gène de structure responsable de la synthèse enzymatique, sous la dépendance du gène de régulation (WARNER *et al.*, 1969). Un système tout à fait analogue fut mis en évidence par PATEMAN et COVE (1967) pour le contrôle de l'ANR chez *Aspergillus nidulans* (voir fig. 2). Une régulation du système enzymatique nitrate réductase par deux gènes à l'état hétérozygote chez l'hybride, pourrait donner un métabolisme plus équilibré que celui des lignées parentales, évitant tout « gaspillage » de synthèse

enzymatique et utilisant au mieux les substrats. Un tel système réalise le concept d'hétérosis tel que le conçoivent HAGEMAN *et al.* (1967).

Comparant les ANR mesurées directement sur des fragments de tissu (*in vivo*) et après broyage et mise en solution de l'enzyme (*in vitro*) sur cinq lignées de maïs et leurs hybrides, FORTINI *et al.* (1975) estiment que le contrôle de l'ANR serait sous la dépendance de deux systèmes partiellement indépendants. L'ANR mesurée *in vitro* serait le fait d'un nombre réduit de gènes à action non additive principalement, ce qui serait en accord avec les résultats de WARNER *et al.* (1969). L'ANR mesurée *in vivo* dépendrait surtout de plusieurs gènes à action additive agissant sur le niveau de l'enzyme, ou sur l'ensemble des substrats et produits de réaction.

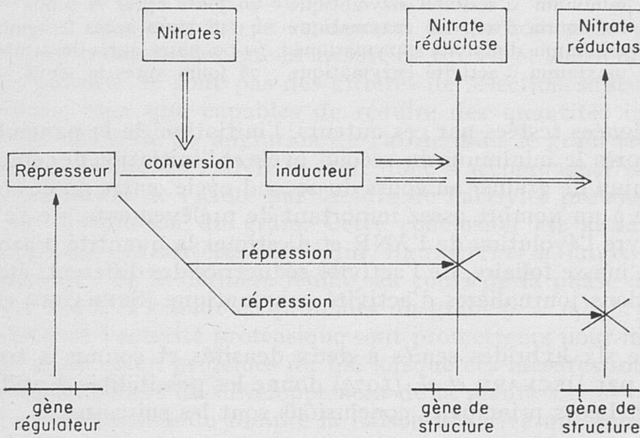



FIG. 2. — *Contrôle de la réduction des nitrates chez* Aspergillus nidulans (PATEMAN et COVE, 1967)

Chez le Blé, EDWARDS (1973) estime que le contrôle de l'ANR serait de nature polygénique, ce qui serait confirmé par l'analyse de combinaisons de ditélosomiques et nullisomiques-tétrasomiques chez « Chinese Spring ». Toutefois, l'héritabilité au sens large mesurée au champ et en serre et l'héritabilité au sens étroit mesurée sur plantule en chambre de culture, indiquent que ce caractère serait hautement héritable.

### E. — *Activité nitrate réductase et caractéristiques agronomiques*

Devant le rôle-clé de l'enzyme nitrate réductase, de nombreux auteurs ont recherché la possibilité d'utiliser la mesure de son activité comme critère de sélection, ou pour la prédiction de certaines caractéristiques agronomiques. Nous examinerons successivement à titre d'exemple le cas du Maïs, du Blé et du Sorgho.

*Cas du Maïs*

Initialement l'étude de l'ANR chez cette plante a été entreprise pour essayer d'expliquer le comportement différent de certains hybrides à diverses densités de peuplement. Il est apparu très rapidement que l'ANR pouvait servir d'indice pour estimer certaines potentialités de la plante (HAGEMAN et FLESHER, 1960). Des

hybrides, par exemple, se classaient dans le même ordre pour leur ANR et leurs performances agronomiques (ZIESERL *et al.*, 1963). Sa mesure peut permettre en particulier d'estimer les quantités d'azote réduit par le couvert végétal et autorise des prédictions : le besoin en azote de la culture, la production totale en azote réduit, la teneur en azote du grain et éventuellement la productivité en grain.

L'ANR présente d'importantes variations journalières (HAGEMAN *et al.*, 1961) et des variations saisonnières encore plus fortes. Toutefois, il est possible de définir trois cycles d'activité dans les conditions normales de croissance au champ (PETERSON *et al.*, 1963) :

| | | |
|---|---|---|
| premier cycle : | minimum d'activité enzymatique : | 4 jours après le semis |
| | maximum d'activité enzymatique : | 13 jours après le semis |
| deuxième cycle : | minimum d'activité enzymatique : | 20 jours après le semis |
| | maximum d'activité enzymatique : | 43-48 jours après le semis |
| troisième cycle : | minimum d'activité enzymatique : | 64-69 jours après le semis |
| | maximum d'activité enzymatique : | 78 jours après le semis. |

Pour les lignées testées par ces auteurs, l'initiation de la panicule se produit 7 à 10 jours après le minimum du second cycle et l'initiation des épis (fixation du nombre maximum de grains) au cours du second cycle, entre 30 et 60 jours après le semis. Grâce à un nombre assez important de prélèvements (de 12 à 15), il est possible de suivre l'évolution de l'ANR et d'estimer la quantité d'azote réduit en fonction : de la masse foliaire, de l'activité réductrice des différents étages foliaires et des fluctuations journalières d'activité enzymatique (SCHRADER et HAGEMAN, 1965).

L'étude de six hybrides semés à deux densités et soumis à trois types de fumure azotée par DECKARD *et al.* (1973) donne les possibilités d'utilisation d'une telle technique. Leurs principales conclusions sont les suivantes :

— Les apports d'azote en cours de végétation augmentent la teneur en nitrates des limbes et il en résulte une ANR plus élevée. Les apports tardifs — après la floraison femelle — sont peu efficaces pour maintenir une haute activité enzymatique du tissu foliaire.

— L'ANR du couvert végétal, exprimée par l'activité saisonnière moyenne, ou convertie en quantité d'azote réduit à l'hectare, est en corrélation positive significative avec le rendement en grain, le rendement en protéines du grain et la quantité d'azote réduit à l'hectare par la partie aérienne de la plante à maturité. Les corrélations les plus fortes, avec le rendement en grain et le rendement en protéines à l'hectare, sont obtenues avec les dosages effectués au cours de la phase d'initiation et de développement de l'épi.

Pour ces auteurs, un nombre minime d'échantillonnages et de dosages peut constituer une technique de prévision et surtout de sélection de variétés à haut potentiel de productivité ou de teneur élevée en protéines. Une autre possibilité est proposée par ces mêmes auteurs : il s'agirait de mettre en évidence des différences d'ANR entre génotypes en conditions contrôlées et de rechercher les mêmes différences au champ.

*Cas du Blé*

Sur le Blé, plusieurs équipes ont réalisé un travail identique à celui de DECKARD *et al.* (1973) pour la recherche d'une liaison entre ANR et des caractères agronomiques importants : rendement en grain, teneur en protéines, etc (CROY et HAGE-

MAN, 1970; EILRICH et HAGEMAN, 1973; HERNANDEZ *et al.*, 1974; EDWARDS, 1974; DALLING *et al.*, 1975; BRUNETTI *et al.*, 1975). Les principales conclusions de tous ces travaux sont pratiquement identiques à celles que nous avons dégagées chez le Maïs, nous ne ferons donc que les résumer.

L'ANR est étroitement liée à la présence des nitrates en amont et à la synthèse protéique en aval. Aussi tout apport de fumure azotée se traduit par une augmentation de la teneur en nitrates des tissus et simultanément de l'ANR. L'azote réduit utilisé par les synthèses augmente la teneur en protéines de la plante et du grain. Sur un nombre limité de cultivars, une corrélation positive apparaît entre l'azote réduit par la plante — estimé à partir de l'ANR — et la teneur en azote total de la plante — estimé par dosage — le rendement en protéines du grain à l'hectare et le rendement en grain.

Étudiant plus spécialement le rendement en protéines de cinq cultivars, DALLING *et al.* (1975) constatent que la mesure de l'ANR et le calcul de la quantité d'azote qu'elle permet, ne sont pas des critères de sélection suffisants. En effet, certains cultivars, bien que capables de réduire des quantités importantes de nitrates, ont une efficacité de migration de l'azote dans le grain très faible. Pour être utilisable, la mesure de l'ANR devrait donc s'accompagner d'une étude de l'efficacité de migration de l'azote par mesure de l'activité protéasique au cours de la phase de maturation du grain. Cette conclusion est aussi formulée par EDWARDS (1974). Sur dix variétés de blé dur, BRUNETTI *et al.* (1975) montrent que l'activité protéasique de la dernière feuille, au cours de la phase de maturation, est étroitement liée à la teneur en protéines du grain ($r = 0{,}85^{**}$). Ils estiment donc que « l'ANR et l'activité protéasique sont prometteurs pour la prévision des rendements en grain et en protéines du blé lorsque ces mesures sont effectuées à certains stades particuliers du développement de la plante ».

Enfin, il serait possible de rompre la liaison négative qui apparaît fréquemment entre rendement en grain et teneur en azote du grain (EILRICH et HAGEMAN, 1973), en maintenant un niveau de nitrates suffisamment élevé au cours des stades tardifs de développement de la plante, au moins pour les variétés peu sensibles à la verse.

*Cas du Sorgho*

La recherche des mêmes types de liaison a été faite aussi sur le Sorgho-grain, avec moins de succès par ECK *et al.* (1975) : sur 11 cultivars, 7 ont un comportement identique et l'estimation de l'azote réduit par dosage de l'ANR est en bonne corrélation avec l'azote réduit dosé dans la plante, les quatre autres ont une teneur plus basse en azote. L'efficacité de migration est pourtant relativement constante : de 68 à 77 p. 100. Ces mêmes auteurs signalent que les ANR de jeunes plantules en chambre climatisée ne sont pas du tout indicatives de l'ANR des plantes au champ.

### F. — *Méthodes de mesure de l'activité nitrate réductase*

Les méthodes de mesure de l'ANR employées par les auteurs cités précédemment et auxquelles il était fait allusion, sont de deux types différents.

La première méthode (*in vitro*), utilisée dès 1953 par EVANS et NASON, consiste à extraire l'enzyme par broyage en présence de tampon et d'agents protecteurs (HAGEMAN et HUCKLESBY, 1971). La mesure de l'activité se fait sur l'enzyme en

solution, dans des conditions optimales de pH, de température, de concentration de substrats ($NO_3^-$ et donneur d'électrons). La vitesse d'apparition du produit de réduction ($NO_2^-$) est en relation linéaire avec la concentration en enzyme.

La seconde méthode, introduite par BAR-AKIVA *et al.* (1970) et développée par de nombreux auteurs (JAWORSKI, 1971; KLEPPER *et al.*, 1971; RHODES et STEWART, 1974; CHANTARATWONG *et al.*, 1976) se distingue de la première par le fait que l'enzyme n'est pas extraite mais reste à l'intérieur du tissu (méthode *in vivo*). Des fragments de celui-ci sont immergés dans un tampon en présence de perméabilisant et de substrat. Les nitrites formés à l'obscurité diffusent dans le milieu, permettant ainsi d'estimer la réduction des nitrates par l'échantillon. Les activités enzymatiques mesurées dans ces conditions sont toujours inférieures à celles obtenues par la première méthode (BRUNETTI et HAGEMAN, 1976).

Si l'intérêt de cette dernière méthode réside dans sa rapidité et sa simplicité d'exécution, l'activité mesurée est la résultante de plusieurs phénomènes indissociables : la diffusion des substrats jusqu'au site de l'enzyme, la réduction enzymatique proprement dite, la régulation de l'enzyme par des métabolites endogènes, la stabilité des nitrites formés, la diffusion de ceux-ci hors du tissu. Par contre, la méthode *in vitro*, bien qu'étant une technique laborieuse, reste une méthode de référence pour connaître la quantité d'enzyme active présente dans l'échantillon.

### G. — *Conclusion*

La mesure de l'activité de cette enzyme-clé du métabolisme azoté de la plante est l'objet de nombreux travaux de recherche depuis vingt ans. Outre les nombreuses études de type fondamental pour une meilleure connaissance de l'enzyme et des mécanismes de son contrôle, des applications importantes sont envisageables.

Cette mesure peut permettre d'estimer les besoins en nitrate de la plante (BAR-AKIVA *et al.*, 1970; WITT et JUNK, 1973). Il devient alors possible d'ajuster la fumure azotée à ces besoins, limitant ainsi les pertes et les risques de pollution de nappes phréatiques et cours d'eau (JOHNSON *et al.*, 1976). Elle offre surtout pour le sélectionneur une technique intéressante qui lui permet de retenir les plantes aux plus fortes aptitudes de réduction des nitrates. Ces plantes se révèlent dans beaucoup de cas parmi les plus productives avec une teneur en protéines de leur produit — le grain — améliorée. C'est dans ce sens que nous proposons d'utiliser cette mesure.

A la suite des premiers travaux de MULLER (1974), nous avons émis l'hypothèse que chez le Maïs des différences d'activité se manifestaient entre variétés dès le stade plantule, stade où l'activité enzymatique est maximale. La mesure de cette activité pourrait ainsi constituer un critère précoce de sélection. A l'aide de ce dernier, nous envisageons de prospecter les rapports existant entre cette activité enzymatique et la teneur en protéines du grain d'une part, la prolificité en épis d'autre part. En effet, une forte teneur en protéines du grain, ou la présence de plusieurs épis de taille analogue par plante, nécessite une réduction importante des nitrates. D'autre part, la tolérance de certaines lignées ou hybrides au fort peuplement, serait due à une activité nitrate réductase moins sensible à la diminution de l'intensité lumineuse; ce serait le cas des variétés prolifiques en épis. Nous avons donc, dans un premier temps, comparé l'ANR de trois groupes de lignées de maïs.

## II. — Comparaison de l'activité nitrate réductase de trois groupes de lignées de maïs

### A. — *Matériel et méthodes*

1. *Matériel végétal*

Le matériel végétal utilisé pour cette étude (tabl. 3) est constitué de lignées appartenant à trois groupes distincts : un groupe de lignées dites « courantes » à un seul épi; un groupe de lignées dites « protéines » à haute teneur en protéines du grain — entre 13 et 18 % de la matière sèche — et enfin un groupe de lignées dites « prolifiques » à plusieurs épis par plante. Les lignées courantes sont fixées, certaines lignées protéines et prolifiques sont en $F_6$.

TABLEAU 3

*Matériel végétal utilisé*

| Lignées courantes | Lignées riches en protéines | Lignées prolifiques |
|---|---|---|
| A 619 | IHP | A 632 |
| C 103 | BGR 934 | B 77 |
| FR 64 A | Ky 303 | Blue Prolific |
| Oh 7 | YuT 789 | F 576 (*) |
| Oh 43 | FP 5 (*) | T 115 |
| WF 9 | FP 10 (*) | Yu 1071 |
| W 117 | FP 19 (*) | F 576 × 1278-93 (*) |
| F 485 (*) | FP 23 (*) | F 576 × Bx55-85-53 (*) |
| F 497 (*) | FP 32 (*) | F 576 × B 59-6 (*) |
| F 502 (*) | FP 99 (*) | F 576 × A 632-52 (*) |
| F 515 (*) | FP 313 (*) | F 564 × F 576 × F 49-10 (*) |
| F 546 (*) | FP 345 (*) | A 632 × B 59-88 (*) |

(*) Lignées de la Station de Montpellier.

Dans chacun des groupes, il existe une parenté entre certaines lignées. Ceci tient au fait que la variabilité génétique actuellement utilisée est très réduite : tant parmi les lignées courantes de bonne valeur agronomique, que parmi les lignées riches en protéines de la Station de Montpellier (géniteur IHP), que parmi les lignées prolifiques (géniteur F 576).

2. *Technique de culture du matériel végétal*

Les plantules sont cultivées en terrine (30 × 30 × 5 cm) sur un mélange de terre et de tourbe, à raison de 25 plantules par terrine. La culture est effectuée dans la même enceinte climatisée dans les conditions suivantes : la photopériode est de 16 heures d'éclairement (à la température de 25,0 ± 0,5 °C) et 8 heures d'obscurité (à la température de 15,0 ± 0,5 °C); l'hygrométrie oscille entre 95 et 100 p. 100; l'éclairement est réalisé par des tubes fluorescents disposés à un mètre au-dessus des terrines et fournissant une intensité lumineuse voisine de 25 000 lux.

Les plantules sont arrosées quotidiennement sans apport de fertilisant, la teneur en nitrate du support de culture étant de 1,3 p. 100.

A l'intérieur de l'enceinte climatisée, les terrines sont disposées au hasard et permutées tous les deux jours. Les échantillons issus d'une même période de culture constituent une série expérimentale.

3. *Récolte et conservation des échantillons*

La partie aérienne des plantules est récoltée au dixième jour, alors que s'effectue la sortie de la troisième feuille avec ligule visible, après 6 heures d'éclairement le jour de la récolte. Les feuilles sectionnées sont aussitôt pesées et des échantillons de 2 grammes placés dans des tubes à hémolyse. Ces tubes sont disposés et stockés dans un récipient à azote liquide. Cette technique permet la conservation d'un nombre important d'échantillons issus d'une même expérimentation.

4. *Extraction de l'enzyme*

La méthode employée est celle de HAGEMAN et HUCKLESBY (1971) que nous avons adaptée pour des dosages en série.

Le milieu d'extraction est constitué par un tampon Tris-HCl 0,05 M de pH 8,4, contenant du β-mercaptoéthanol $10^{-3}$M et de l'éthylène diamine tétracétate $5.10^{-3}$M. Ce tampon est utilisé à raison de 7 ml par gramme de matière fraîche. Le broyage est réalisé à 0 °C dans un mortier à l'aide d'un pilon, en présence de sable de Fontainebleau et de polyvinyl pyrrolidone insoluble : 500 mg par gramme de matière fraîche. Le broyat est filtré sous pression sur une toile « Villeda Mop » dans un dispositif Sartorius. Ce filtrat est centrifugé à 30 000 g et à 0 °C pendant 40 minutes.

Le dosage est réalisé sur le surnageant de centrifugation considéré comme la fraction cytoplasmique.

5. *Mesure de l'activité enzymatique*

L'extrait enzymatique (0,2 ml) est incubé à 30 °C dans un tampon phosphate 0,1 M de pH 7,4 (1 ml) en présence de 0,2 ml de $NADH_2$ $2.10^{-3}$M et 0,2 ml de $KNO_3$ 0,1 M. La réaction est arrêtée au bout de 20 minutes par 0,2 ml d'acétate de zinc 1 M. Le précipité qui se forme est éliminé par centrifugation à 600 g pendant 5 minutes.

Les nitrites formés sont dosés dans 1 ml de surnageant avec 1 ml de N naphtyl éthylène diamine dichlorure 0,005 p. 100 et 1 ml de sulfanilamide 1 p. 100 HCl 1,5 N. La concentration du composé diazoïque est mesurée à 540 nm; son coefficient d'extinction molaire est de $47,8.10^3$ $M^{-1}$ $cm^{-1}$.

L'activité enzymatique est exprimée en micromoles de $NO_2^-$ formées par heure et par gramme de matière fraîche.

6. *Analyse statistique*

Nous avons réalisé deux séries expérimentales identiques et successives, chacune comportant l'ensemble des 36 lignées et 3 dosages par lignée. Les ARN moyennes de chaque série et les moyennes générales par lignée sont données dans le tableau 4.

TABLEAU 4

*Activité nitrate réductase moyenne de 36 lignées de maïs*

| Groupes | Lignées | Activité nitrate réductase (en micromoles de $NO_2^-$ par heure et par gramme de matière fraîche) Série I moyenne de 3 mesures | Série II moyenne de 3 mesures | Série I + II moyenne de 6 mesures |
|---|---|---|---|---|
| « courantes » | A 619 | 1,86 | 2,72 | 2,29 |
| | C 103 | 2,17 | 2,76 | 2,45 |
| | FR 64 A. | 6,07 | 3,18 | 4,63 |
| | Oh 7. | 3,01 | 3,06 | 3,04 |
| | Oh 43 | 2,05 | 3,81 | 2,93 |
| | WF 9 | 1,42 | 2,20 | 1,81 |
| | W 117. | 1,88 | 2,33 | 2,10 |
| | F 485 | 2,30 | 3,05 | 2,68 |
| | F 497 | 2,86 | 3,19 | 3,03 |
| | F 502 | 1,37 | 1,52 | 1,44 |
| | F 515 | 3,60 | 3,66 | 3,63 |
| | F 546 | 3,13 | 3,31 | 3,22 |
| | groupe | 2,64 | 2,90 | 2,77 |
| « riches en protéines » | IHP. | 2,96 | 5,10 | 4,03 |
| | BGR 934 | 2,50 | 4,21 | 3,35 |
| | Ky 303 | 1,46 | 2,50 | 1,98 |
| | YuT 789. | 3,71 | 3,49 | 3,60 |
| | FP 5 | 2,83 | 3,68 | 3,26 |
| | FP 10 | 1,27 | 3,11 | 2,19 |
| | FP 19 | 2,28 | 4,73 | 3,51 |
| | FP 23 | 1,37 | 3,33 | 2,35 |
| | FP 32 | 2,48 | 4,32 | 3,40 |
| | FP 99 | 4,13 | 5,12 | 4,62 |
| | FP 313 | 4,89 | 4,47 | 4,68 |
| | FP 345 | 2,63 | 3,48 | 3,06 |
| | groupe | 2,71 | 3,96 | 3,34 |
| « prolifiques » | A 632 | 3,58 | 4,23 | 3,90 |
| | B 77. | 2,26 | 5,54 | 3,90 |
| | Blue Prolific | 3,40 | 5,63 | 4,51 |
| | F 576 | 3,20 | 4,37 | 3,79 |
| | T 115 | 1,79 | 2,09 | 1,94 |
| | Yu 1071 | 2,94 | 3,67 | 3,31 |
| | F 576 × 1278-93 | 3,17 | 7,15 | 5,16 |
| | F 576 × Bx55-85-53. | 3,90 | 6,82 | 5,36 |
| | F 576 × B 59-6. | 3,14 | 8,38 | 5,76 |
| | F 576 × A 632-52. | 3,51 | 8,16 | 5,83 |
| | F 564 × F 576 × F 49-10 | 2,93 | 6,35 | 4,64 |
| | A 632 × B 59-88 | 4,78 | 9,50 | 7,14 |
| | groupe | 3,22 | 5,99 | 4,60 |

L'analyse statistique des résultats (LISON, 1968) a été faite pour l'ensemble des deux séries, en considérant que chacune d'elles constituent un « bloc » et que les lignées représentent les différents traitements.

TABLEAU 5

*Analyse de variance*

| Source de variation | D.L. | C.M. | F calculé |
|---|---|---|---|
| Répétitions | 5 | 22,023 | 16,93 (**) |
| — série I contre série II | 1 | 110,053 | 84,59 (**) |
| — répétitions, même série | 4 | 0,016 | < 1 N.S. |
| Lignées | 35 | 9,949 | 7,65 (**) |
| — groupes de lignées | 2 | 63,506 | 9,47 (**) |
| — lignées dans les groupes | 33 | 6,703 | 5,15 (**) |
| Part du hasard (« erreur ») | 175 | 1,301 | |
| Totale | 215 | | |

(*) Significatif seuil 5 %.
(**) Significatif seuil 1 %.

La variation totale a été décomposée en variation due aux répétitions, variation due aux lignées et variation due au hasard ou « erreur ». Pour les cinq degrés de liberté attachés aux répétitions, nous avons effectué deux comparaisons orthogonales indépendantes permettant de distinguer la variation tenant aux séries de celle tenant aux répétitions à l'intérieur d'une même série (tabl. 5). Pour les trente-cinq degrés de liberté attachés aux lignées, nous avons réalisé deux compa-

TABLEAU 6

*Comparaisons orthogonales entre groupes de lignées*

| Source de variation | D.L. | C.M. | F calculé |
|---|---|---|---|
| Comparaisons : Prolif. — (Cour. + Prot.) | 1 | 115,537 | 17,24 (**) |
| Prot. — Cour. | 1 | 11,475 | 1,71 N.S. |
| Comparaisons : Prot. — (Prolif. + Cour.) | 1 | 5,957 | 0,89 N.S. |
| Prolif. — Cour. | 1 | 121,055 | 18,06 (**) |
| Comparaisons : Cour. — (Prolif. + Prot.) | 1 | 69,024 | 10,29 (**) |
| Prolif. — Prot. | 1 | 57,988 | 8,65 (**) |
| Part du hasard | 33 | 6,703 | |

(*) Significatif seuil 5 %.
(**) Significatif seuil 1 %.

raisons orthogonales indépendantes permettant de distinguer la variation due à l'appartenance de la lignée à un groupe, de celle due aux lignées d'un même groupe (tabl. 5). Les deux degrés de liberté attachés aux groupes de lignées permettent deux comparaisons orthogonales indépendantes entre les groupes. Les trois types possibles de comparaison par association différente des groupes ont été effectués (tabl. 6).

### B. — *Résultats*

Nous constatons à partir des tableaux 3, 4 et 5 que :

1. la reproductibilité des dosages au cours d'une même série est bonne. Cependant les ANR moyennes des deux séries diffèrent de manière hautement significative (tabl. 5);
2. les activités nitrate réductase moyennes de l'ensemble des lignées diffèrent de manière hautement significative. Ces variations tiennent pour une part à un facteur propre à chaque lignée (tabl. 5).
3. les activités nitrate réductase des lignées riches en protéines ne sont pas significativement différentes de celles des lignées courantes; les lignées prolifiques apparaissent significativement différentes des lignées courantes et riches en protéines (tabl. 6). En fait, il convient de remarquer pour ce dernier résultat, que la haute ANR des lignées prolifiques est principalement due aux six lignées en cours de sélection : moyenne 5,65 micromoles de $NO_2^-$ par heure et par gramme de matière fraîche, contre 3,55 pour les cinq lignées introduites et F 576.

### C. — *Discussion*

#### 1. *Reproductibilité des dosages*

Les différences d'activité enzymatique observées entre les deux séries de mesures sont inexplicables autrement que par des pertes d'activité au cours de la conservation des échantillons, la première série ayant été conservée plus longtemps que la seconde. Toutefois, les coefficients de corrélation entre les ANR moyennes de chaque série sont respectivement de 0,93**, 0,95** et 0,97** pour les lignées *courantes, riches en protéines* et *prolifiques*. On a donc, malgré tout, une bonne correspondance entre les deux séries.

De ces résultats, nous pouvons rapprocher ceux d'une étude préliminaire (résultats non publiés) qui avait donné pour chaque groupe les ANR moyennes suivantes (exprimées en micromoles de $NO_2^-$ formées par heure et par gramme de matière fraîche) :

| | |
|---|---|
| 5 lignées *courantes* | : 2,27 |
| 11 lignées *riches en protéines* | : 3,90 |
| 13 lignées *prolifiques* | : 5,20 |

Sur l'ensemble des deux années et pour les trois populations de lignées, nous constatons que les ANR moyennes sont tout à fait comparables et se classent dans le même ordre. De plus, les coefficients de corrélation entre les ANR mesurées en 1975 et les ANR mesurées en 1976 (2[e] série) sont respectivement de 0,99**, 0,90* et 0,90* pour cinq lignées courantes, six lignées riches en protéines et six lignées prolifiques communes aux deux années d'expérimentation.

Bien que pour l'ensemble d'une même série la reproductibilité des dosages apparaisse comme satisfaisante, la principale difficulté de la méthode réside dans

les risques de perte d'activité enzymatique, en raison de la grande instabilité de l'enzyme avant et après son extraction. De nombreuses mesures peuvent être sous-estimées.

2. *Variabilité du caractère activité nitrate réductase*

Pour l'ensemble des lignées, nous observons une variabilité importante du caractère nitrate réductase, puisqu'en première série la variation est de 1 à 5 (1,27 pour FP 10 et 6,07 pour W 64 A) et de 1 à 6 en seconde série (1,52 pour F 502 et 9,50 pour A 632 × B 59-88).

Les ANR de quatre lignées américaines courantes : Oh 43, WF 9, C 103 et Oh 7 de notre expérimentation peuvent être comparées à l'ANR saisonnière moyenne de ces mêmes lignées, publiée par SCHRADER *et al.* (1966). Ces auteurs classent WF 9 et Oh 43 dans un groupe de lignées à faible ANR, C 103 et Oh 7 dans un groupe à haute ANR. Exceptée la valeur moyenne de Oh 43 en deuxième série, nous observons le même classement.

L'ANR des lignées *riches en protéines* n'apparaît pas nettement supérieure à celle des lignées courantes, ce qui semble surprenant *a priori*, la teneur en azote du grain étant leur principale caractéristique. Ce fait est à rapprocher des observations de CROY et HAGEMAN (1970), EDWARDS (1974) et DALLING *et al.* (1975) qui constatent sur Blé, que l'aptitude à mobiliser et à transporter l'azote réduit est tout aussi importante que l'aptitude à réduire les nitrates pour obtenir une haute teneur en protéines du grain. Il est généralement admis que les céréales accumuleraient la plus grande part de l'azote avant la sortie de l'épi et qu'une migration de cet élément s'effectuerait au cours de la formation du grain. Une étude des facteurs contrôlant la redistribution de l'azote dans la plante, semble indiquée. La première étape doit être une dégradation des composés azotés, vraisemblablement due à l'activité de protéases (DALLING *et al.*, 1975). Une mesure de l'activité protéasique des feuilles et tige serait à effectuer, pour déterminer si les lignées de maïs, sélectionnées pour la haute teneur en protéines du grain, n'auraient pas un comportement analogue à celui des lignées de blé (BRUNETTI *et al.*, 1975).

L'ANR des lignées *prolifiques*, en cours de sélection à la Station, est supérieure à celle des lignées courantes et des lignées riches en protéines. L'analogie de comportement de ces lignées avec certaines lignées américaines (ZIESERL et HAGEMAN, 1962), vis-à-vis de la tolérance aux fortes densités culturales, se retrouve au niveau d'une ANR élevée. Il serait intéressant de vérifier que cette activité enzymatique se maintient au cours des stades ultérieurs de croissance et de développement de la plante. Dans l'affirmative, nous pourrions expliquer le comportement de deux types de maïs : prolifiques et courants, à forte densité. L'éclairement réduit créé par l'ombrage mutuel des plantes, diminue sensiblement leur activité réductrice des nitrates. Les maïs prolifiques conservent un niveau d'activité enzymatique qui leur permet de maintenir un taux d'azote réduit suffisant dans la plante. Pour les maïs courants, ce niveau est trop faible, d'où une accumulation des nitrates non réduits et une baisse de productivité. L'ANR serait donc un facteur essentiel pour une bonne tolérance aux forts peuplements.

## D. — *Conclusion*

Au stade « plantule », l'ANR élevée des maïs prolifiques en épis en cours de sélection permet de les caractériser par un test précoce; celui-ci peut être effectué sans destruction de la plantule, ce qui facilite son utilisation en sélection. Ces

résultats nous conduisent à étudier les variations de l'ANR au cours des phases ultérieures de la croissance du matériel prolifique en épis. Il serait ainsi possible de préciser les conséquences du niveau d'activité nitrate réductase sur la biologie du végétal.

*Reçu pour publication en novembre 1976.*

## Summary

*Relationships between productivity, quality of the grain, and nitrate reductase activity in the cereals*

Nitrate reductase occupies a strategic position in the nitrogen metabolism because it is the first enzyme in the reduction of nitrate: main form of mineral nitrogen used by the plants. Moreover this enzyme is regulated by numerous factors, and the most important ones are essentially nitrates and light. Other external factors can play in this regulation when they are limiting: water, temperature, herbicides, and some micronutrients. Their role is examinated.

The genetics of this enzyme was studied in maize and wheat but all the conclusions were not convergent. Because the importance of the enzyme, relationships between its activity and some agronomic characters: yield, yield in protein by hectare, amount of protein in the seed, have been researched in corn, wheat and sorghum. In some cases, good correlations have been established, but it seems that if nitrate reductase can be a limiting factor of the nitrogen metabolism, other factors like the translocations of reduced nitrogen must be examinated for utilisation of its assay in a predictive value.

In maize seedlings this enzymatic activity reaches a maximal level eight to ten days after sowing and its assay might be a successfull way to an early selection of genotypes with a high nitrate reductase activity. In a first step, we looked for differences between three groups of inbred lines and variability in these groups.

The first one was constituted by twelve current lines which were the check material. The second one by twelve lines which had a high protein content in the kernel and could possibly have for that reason, a high nitrate reductase activity. The third one was constituted by twelve ear prolific lines. Ear prolificacy was selected to obtain prolific hybrids with a broad adaptability and a strong productivity in a high plant population. Therefore in a high plant population with decreasing light by mutual shadowing, current hybrids can not reduce nitrate sufficiently to insure a high productivity. In the same conditions, prolific hybrids could possibly have a higher nitrate reductase activity, or an enzymatic activity less sensitive to lowered light intensity.

We used a modified *in vitro* assay with leaves of ten days seedlings which grew in a growth chamber. Two sets of culture were carried out.

There were differences in enzymatic activities between the two sets, that we could explain by slight differences in growing and storing conditions. However the correlations between the averages of the two sets were very satisfaying. For all lines, there was an important variability of the nitrate reductase activity character: a wide range (up to six fold) was observed in the two sets. Statistic analysis had supported the following conclusions: the activities were significantly different between lines and between groups of lines, the prolific lines selected in the Station had a higher nitrate reductase activity than the current or high protein lines, the activities of high protein lines did not seem different than of the current ones.

The low nitrate reductase activities in high protein lines could be surprising, but we must remember that the nitrate reduction is only one step to a high protein content in the kernel. So the capacity to mobilize and carry the reduced nitrogen might be of great importance and therefore would explain the differences observed in this material.

In the prolific lines and especially in those which have been selected for their high ear prolificacy, the high nitrate reductase activity presents a great interest. There is a good analogy in the adaptation to high plant population between these ones and some American lines. We assume that this material maintains a sufficient level of nitrate reductase activity for a high productivity even if it was affected by shading when sown densely. With this material we intend to study the relationships between early nitrate reductase activity and ear prolicacy level. The variations of nitrate reductase activity with the quantity of reduced nitrogen in the plant during the next steps of growing will be also followed up.

## Références bibliographiques


AFRIDI M. M. R. K., HEWITT E. J., 1964. The inducible formation and stability of nitrate reductase in higher plants. *J. exptl. Bot.*, **15**, 251-271.

ALOFE OLUWOLE C., SCHRADER L. E., SMITH R. R., 1973. Influence of high day and variable night temperatures on nitrate reductase activity of young corn (*Zea mays* L.) plants. *Crop Sci.*, **13**, 625-629.

ASLAM M., HUFFAKER R. C., 1973. Effect of DCMU, simazine and atrazine on nitrate reductase activity in *Hordeum vulgare in vitro* and *in vivo*. *Physiol. Plant.*, **28**, 400-404.

BAR AKIVA A., SAGIV J., LESHEM J., 1970. Nitrate reductase activity as an indicator for assessing the nitrogen requirement of grass crops. *J. Sci. Fd. Agric.*, **21**, 405-407.

BEEVERS L., HAGEMAN R. H., 1972. The role of light in nitrate metabolism in higher plants. *Photophysiology*, **7**, 85-113.

BEEVERS L., HAGEMAN R. H., 1969. Nitrate reduction in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **20**, 495-522.

BEEVERS L., PETERSON D. M., SHANNON J. C., HAGEMAN R. H., 1963. Comparative effects of 2,4 dichlorophenoxyacetic acid on nitrate metabolism in corn and cucumber. *Plant. Physiol.*, **38**, 675-679.

BEEVERS L., SCHRADER L. E., FLESHER D., HAGEMAN R. H., 1965. The role of light and nitrate in the induction of nitrate reductase in radish cotyledons and maize seedlings. *Plant. Physiol.*, **40**, 691-698.

BLANC D., 1958. Contribution à l'étude de la nutrition azotée en culture sur sable. *Ann. Physiol. vég.*, **9** (suppl. 1), 49-69.

BLANC D., 1961. Les limites d'utilisation des nitrates et la production de matière sèche. *C.R. Séances Acad. Agric.*, 912-917.

BLANC D., 1963. Étude comparative du métabolisme azoté du végétal en milieu nitrique et ammoniaco-nitrique. *Bull. Soc. fr. Physiol. vég.*, **9**, 186-194.

BLONDEL A. M., BLANC D., 1975. Accidents végétatifs sur agrumes en Corse. Mise en évidence d'une carence en molybdène par utilisation du test de mesure *in vivo* de l'activité de la nitrate réductase. *Ann. Agron.*, **26**, 277-287.

BRUNETTI N., HAGEMAN R. H., 1976. Comparison of *in vivo* and *in vitro* assays of nitrate reductase in wheat seedlings. *Plant Physiol.*, **58**, 583-587.

BRUNETTI N., ROSSI L., FERRANDI L., 1975. Attività nitrato-riduttasica e proteasica in dieci varietà di frumento duro ante la fase di maturazione della granella. *Genet. agr.*, **29**, 79-94.

CHAMPIGNY M. L., 1963. Sur l'activité et l'induction de la nitrate réductase dans les plantules de maïs. *Physiol. vég.*, **1**, 139-169.

CHANTARATWONG W., HUFFAKER R. C., MILLER B. L., GRANSTEDT R. C., 1976. *In vivo* nitrate reduction in relation to nitrate uptake, nitrate content, and *in vitro* nitrate reductase activity in intact barley seedlings. *Plant Physiol.*, **57**, 519-522.

CROY L. I., HAGEMAN R. H., 1970. Relationships of nitrate reductase activity to grain protein production in wheat. *Crop Sci.*, **10**, 280-285.

DALLING M. J., HALLORAN G. M., WILSON J. H., 1975. The relation between nitrate reductase activity and grain nitrogen productivity in wheat. *Aust. J. Agric. Res.*, **26**, 1-10.

DECKARD E. L., LAMBERT R. J., HAGEMAN R. H., 1973. Nitrate reductase activity in corn leaves as related to yields of grain and grain protein. *Crop Sci.*, **13**, 343-350.

DIBB D. W., WELCH L. F., 1976. Corn growth as affected by ammonium vs. nitrate absorbed from soil. *Agron. J.*, **68**, 89-94.

DUNCAN W. G., 1958. The relationship between corn population and yield. *Agron. J.*, **50**, 82-84.

EARLEY E. B., MCILRATH W. O., SEIF R. D., HAGEMAN R. H., 1967. Effect of shade applied at different stages of plant development on corn (*Zea mays* L.) production. *Crop Sci.*, **7**, 151-156.

EARLEY E. B., MILLER R. J., REICHERT G. L., HAGEMAN R. H., SEIF R. D., 1966. Effect of shade on maize production under field conditions. *Crop Sci.*, **6**, 1-7.

ECK H. V., WILSON G. C., MARTINEZ T., 1975. Nitrate reductase activity of grain sorghum leaves as related to yields of grain, dry matter and nitrogen. *Crop Sci.*, **15**, 557-561.

EDWARDS I. B., 1974. Physiologic and genetic studies of nitrate reductase activity and nitrogen distribution in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Diss. Abstr.*, **34**, 5772 B, Order nº 74-12, 168 p.

EILRICH G. L., HAGEMAN R. H., 1973. Nitrate reductase activity and its relationship to accumulation of vegetative and grain nitrogen in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Crop Sci.*, **13**, 59-66.

EVANS H. J., NASON A., 1953. Pyridine nucleotide nitrate reductase from extracts of higher plants. *Plant Physiol.*, **28**, 233-254.

FORTINI S., GALTERIO G., MARIANI B. M., SGRULLETTA D., 1975. *In vivo* and *in vitro* nitrate reductase activity in seedlings of maize inbreds and their hybrids. *Maydica*, **20**, 133-144.

HAGEMAN R. H., FLESHER D., 1960. Nitrate reductase activity in corn seedling as affected by light and nitrate content of nutrient media. *Plant Physiol.*, **35**, 700-708.

HAGEMAN R. H., FLESHER D., GITTER A., 1961. Diurnal variation and other light effects influencing the activity of nitrate reductase and nitrogen metabolism in corn. *Crop Sci.*, **1**, 201-204.

HAGEMAN R. H., HUCKLESBY D. P., 1971. Nitrate reductase from higher plants. *Methods in Enzymology*, **23**, 491-503.

HAGEMAN R. H., LENG E. R., DUDLEY J. W., 1967. A biochemical approach to plant breeding. *Adv. Agron.*, **19**, 45-86.

HEIMER Y. M., FILNER P., 1971. Regulation of the nitrate assimilation pathway in cultured tobacco cells. *Biochim. Biophys. Acta*, **230**, 362-372.

HERNANDEZ H. H., WALSH D. E., BAUER A., 1974. Nitrate reductase of wheat. Its relation to nitrogen fertilization. *Cereal Chemistry*, **51**, 330-336.

HESKETH J. P., MUSGRAVE R. B., 1962. Photosynthesis under field conditions. IV. Light studies with individual corn leaves. *Crop Sci.*, **2**, 311-315.

HEWITT E. J., 1975. Assimilatory nitrate — nitrite reduction. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **26**, 73-100.

HEWITT E. J., NICHOLAS D. J. D., 1964. Enzymes of inorganic nitrogen metabolism. In « *Modern Methods of Plant Analysis* » Springer, Berlin, **7**, 67-172.

JACKSON W. A., FLESHER D., HAGEMAN R. H., 1973. Nitrate uptake by dark-grown corn seedlings. *Plant Physiol.*, **51**, 120-127.

JAWORSKI E. G., 1971. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **43**, 1274-1279.

JOHNSON C. B., 1976. Rapid activation by phytochrome of nitrate reductase in the cotyledons of *Sinapis alba*. *Planta*, **128**, 127-131.

JOHNSON C. B., WHITTINGTON W. J., BLACKWOOD G. C., 1976. Nitrate reductase as a possible predictive test of crop yield. *Nature*, **262**, 133-134.

JONES R. W., SHEARD R. W., 1975. Phytochrome, nitrate movement and induction of nitrate reductase in etiolated pea terminal buds. *Plant Physiol.*, **55**, 954-959.

JOY K. W., HAGEMAN R. H., 1966. The purification and properties of nitrite reductase from higher plants and its dependance on ferredoxin. *Biochem. J.*, **100**, 263-273.

KLEPPER L., FLESHER D., HAGEMAN R. H., 1971. Generation of reduced NAD for nitrate reduction in green leaves. *Plant Physiol.*, **48**, 580-590.

KNIPMEYER J. W., HAGEMAN R. H., EARLEY E. B., SEIF R. D., 1962. Effect of light intensity on certains metabolites of the corn plant. *Crop Sci.*, **2**, 1-5.

LANG A. L., PENDLETON J. W., DUNGAN G. H., 1956. Influence of population and nitrogen levels on yield and protein and oil content of nine corn hybrids. *Agron. J.*, **48**, 284-289.

LISON L., 1958. *Statistique appliquée à la biologie expérimentale*. La planification de l'expérience et l'analyse des résultats. 85-152. Gauthier-Villars, Paris.

MATTAS R. E., PAULI A. W., 1965. Trends in nitrate reduction and nitrogen fractions in young corn (*Zea mays* L.) plants during heat and moisture stress. *Crop Sci.*, **5**, 181-184.

MORILLA C. A., BOYER J. S., HAGEMAN R. H., 1973. Nitrate reductase activity and polyribosomal content of corn (*Zea mays* L.) having low leaf water potentials. *Plant Physiol.*, **51**, 817-824.

MOSS D. M., MUSGRAVE R. B., LEMON E. R., 1961. Photosynthesis under field conditions. III. Some effects of light, carbon dioxide, temperature, and soil moisture on photosynthesis, respiration and transpiration of corn. *Crop Sci.*, **1**, 83-87.

MOSS D. M., STINSON H. T., 1961. Differential response of corn hybrids to shade. *Crop Sci.*, **1**, 416-418.

MULLER J. P., 1974. *Mise au point d'un test précoce pour la sélection de maïs prolifiques en épis et de maïs à haute teneur en protéines*. Mémoire de fin d'études E.N.S.A. de Rennes et Montpellier.

NOTTON B. A., HEWITT E. J., 1971. Incorporation of radioactive molybdenum into protein during nitrate reductase formation and effect of molybdenum on nitrate reductase and diaphorase activities of Spinach (*Spinacea oleracea* L.). *Plant Cell. Physiol.*, **12**, 465-477.

ONWUEME I. C., LAUDE H. M., HUFFAKER R. C., 1971. Nitrate reductase activity in relation to heat stress in barley seedlings. *Crop Sci.*, **11**, 195-200.

PATEMAN J. A., COVE D. J., 1967. Regulation of nitrate reduction in *Aspergillus nidulans*. *Nature*, **215**, 1234-1237.

PETERS D. B., PENDLETON J. W., HAGEMAN R. H., BROWN C. M., 1971. Effect of night air temperature on grain yield of corn, wheat and soybean. *Agron. J.*, **63**, 809.

PETERSON D. M., STEMER E. G., LENG E. R., HAGEMAN R. H., 1963. Association of seasonal patterns of nitrate reductase activity with morphological development of field grown maize. *Plant Physiol. Meetings.* Univ. of Illinois.

PRINE G. M., 1971. A critical period for ear development in maize. *Crop Sci.*, **11**, 782-786.

RHODES D., STEWART R. G., 1974. A procedure for the *in vivo* determination of enzyme activity in higher plant tissues. *Planta*, **118**, 133-144.

RIES S. K., CHMIEL H., DILLEY D. R., FILNER P., 1967. The increase in nitrate reductase activity and protein content of plants treated with simazine. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.*, **58**, 526-532.

SCHRADER L. E., DOMSKA D., JUNG P. E., PETERSON Jr et L. A., 1972. Uptake and assimilation of ammonium-N and nitrate-N and their influence on the growth of corn (*Zea mays* L.). *Agron. J.*, **64**, 690-695.

SCHRADER L. E., HAGEMAN R. H., 1965. Seasonal changes in nitrogenous metabolites of maize. *Agron. Abstr. Amer. Soc. of Agron. Annual meeting*, 30.

SCHRADER L. E., PETERSON D. M., LENG E. R., HAGEMAN R. H., 1966. Nitrate reductase activity of maize hybrids and parental inbred. *Crop Sci.*, **6**, 169-173.

STINSON H. T., MOSS D. N., 1960. Some effects of shade upon corn hybrids tolerant and intolerant of dense planting. *Agron. J.*, **52**, 482-484.

TEARE I. D., MANAM R., KANEMASU E. T., 1974. Diurnal and seasonal trends in nitrate reductase activity in field grown sorghum plants. *Agron. J.*, **66**, 733-736.

TERRILLON G., PAYNOT M., 1973. Effect d'un traitement à l'atrazine sur l'activité nitrate réductase du blé. *C.R. Acad. Sc. Paris*, **227**, 2489-2491.

TOMAN F. R., PAULI A. W., 1964. Changes in nitrate reductase activity and contents of nitrate and nitrite during cold hardening and dehardening of crowns of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Crop Sci.*, **4**, 356-359.

TWEEDY J. A., RIES S. K., 1967. Effect of simazine on nitrate reductase activity in corn. *Plant Physiol.*, **42**, 280-282.

UPCROFT J. A., DONE J., 1974. Starch gel electrophoresis of plant NADH nitrate reductase and nitrite reductase. *J. exptl. Bot.*, **25**, 503-508.

WARNCKE D. D., BARBER S. A., 1973. Ammonium and nitrate uptake by corn (*Zea mays* L.) as influenced by nitrogen concentration and $NH_4/NO_3$ ratio. *Agron. J.*, **65**, 950-953.

WARNER R. L., HAGEMAN R. H., DUDLEY J. W., LAMBERT R. J., 1969. Inheritance of nitrate reductase activity in *Zea mays* L., *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.*, **62**, 785-792.

WITT H. H., JUNGK A., 1974. Die nitratinduzierbare Nitratereduktase. Aktivität als Mass für die Stickstoffversorgung von Pflanzen. *Landwirtsch. Forsch. Sonderh.*, **30**, 1-9.

YOUNIS M. A., PAULI A. W., MITCHELL H. L., STICKLER F. C., 1965. Temperature and its interaction with light and moisture in nitrogen metabolism of corn (*Zea mays* L.) seedlings. *Crop Sci.*, **5**, 321-326.

ZIESERL J. F., HAGEMAN R. H., 1962. Effect of genetic composition on nitrate reductase activity in maize. *Crop Sci.*, **2**, 512-515.

ZIESERL J. F., RIVENBARK W. L., HAGEMAN R. H., 1963. Nitrate reductase activity protein content, and yield of four maize hybrids at varying plant populations. *Crop Sci.*, **3**, 27-32.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (4), 411-426.

# Essai d'application d'acide gibbérellique $GA_3$ sur une culture d'artichaut de printemps (*Cynara scolymus* L.) cultivar « Blanc Hyérois »

C. FOURY*

*Station d'Amélioration des Plantes maraîchères,*
*Centre de Recherches d'Avignon, I.N.R.A.,*
*84140 Montfavet*

## Résumé

Les nombreuses études de l'action de la gibbérelline sur l'Artichaut sont souvent contradictoires mais montrent l'importance de l'époque d'application. Le but de la présente expérience est de suivre le développement de la plante en conditions pratiques (variétés et saison de culture) sous l'action de la gibbérelline afin de définir quelques principes généraux d'utilisation. Cette substance peut accroître la précocité mais ne modifie pas le rendement et ses composantes. Son efficacité diminue d'une part avec la tardiveté du traitement, d'autre part pour une date donnée, du virage floral à la récolte. Il s'ensuit que l'utilisation pratique de la gibbérelline dépend essentiellement des conditions de remise en végétation et du régime thermique hivernal. L'intérêt diminue au fur et à mesure que la latitude augmente.

## Introduction

Depuis 20 ans, de nombreux essais d'application de gibbérelline sur l'Artichaut ont été effectués, leurs résultats sont inconstants. Dans la plupart des cas les expérimentateurs ont recherché empiriquement les dates de traitement et les doses permettant d'atteindre une plus grande précocité. Les quelques données expérimentales intéressantes localement ont été, bien souvent, reprises dans des conditions très différentes d'où les échecs, les incertitudes et la faible extension de cette pratique. L'analyse des résultats les plus caractéristiques paraît donc souhaitable pour tenter une recherche explicative et de portée générale.

A Toulouse, BONNET (1959) un des premiers, essaye la gibbérelline sur « Camus de Bretagne » (« Macau du Sud-Ouest ») en culture de printemps. Les pulvérisations tardives (22 janvier au 5 février) et très diluées (0,75 à 3 mg/plante) ne lui permettent d'observer que de fugaces modifications morphologiques.

(*) Adresse actuelle : Chaire de Culture légumière, ENSH, 78000 Versailles.

A partir de 1958 et pendant 10 ans Rubatzky (1971) exécute, en Californie, de nombreux essais de plein champ dont quelques-uns seulement sont significatifs. Il conclut cependant à l'efficacité d'une pulvérisation d'au moins 50 mg par litre effectuée au plus tard 6 semaines avant le début de la récolte. Ultérieurement, Rubatzky (1973) situe l'époque optimale entre le 15 juillet et le 15 août. Une seule variété, « Green globe » est cultivée en Californie; elle est traitée pratiquement comme une plante pérenne. La plantation comme la remise en végétation est effectuée à partir de fin juin. Les températures estivales moins élevées permettent une végétation plus active et une montaison plus précoce que sous les latitudes équivalentes de la région méditerranéenne (Maroc, Chypre, Nord Israël). La récolte débute en septembre et se poursuit jusqu'en mai, notamment à cause de l'absence d'œilletonnage. Aussi, en dépit des efforts de vulgarisation, l'usage de la gibbérelline n'est pas largement suivi en Californie, « sans doute parce que les résultats obtenus (jusqu'à 6 semaines d'avance pourtant) ne sont pas réellement évidents pour les cultivateurs » (Rubatzky, 1973).

En Israël, les effets doses, époques et variétés ont été abordés simultanément et de manière approfondie mais sous l'angle de la pratique locale (de Angelis, 1970; de Angelis et Sachs, 1973). Sur « Blanc Hyérois » planté le 27 juillet 1968, seuls les traitements à 120 mg par litre (soit environ 10 mg/plante) effectués du 15 septembre au début novembre se sont révélés efficaces. Celui du 15 septembre raccourcit le cycle de 100 jours environ, celui du 25 octobre de seulement 40 jours. Le déroulement de la récolte devient alors bimodal; les rendements sont parfois supérieurs. Les auteurs ont déterminé les conditions d'application sur trois cultivars : deux pulvérisations à 40 mg par litre au début d'octobre sur « Violet de Provence »; trois à 120 mg par litre courant septembre sur « Blanc Hyérois »; deux à 200 ou 250 mg par litre entre le 15 septembre et le 10 octobre sur « Camus ».

Basnizki et Even Ari (1973) confirment l'époque optimum pour « Camus », mais déterminent une dose plus réduite (100 à 150 mg/l) et montrent la supériorité des applications multiples plus diluées.

Ainsi, parfaitement défini pour les conditions locales, l'usage de la gibbérelline s'est très largement répandu en Israël. Toutefois, les gelées peuvent endommager sérieusement les récoltes hâtives; les doses fortes apportées trop tardivement provoquent souvent des déformations du capitule, nuisibles à sa commercialisation. Enfin, selon Basnizki (com. verb.) l'élevage des plants suivant la méthode hyéroise, suffit à assurer une précocité satisfaisante.

Différents auteurs dont Casilli (1967), Radwan (1973), Zonardi (1967) confirment plus ou moins ces résultats dans diverses zones chaudes de la Méditerranée. Mais les innombrables essais de comportement sont plus ou moins démonstratifs et la gibbérelline ne parvient pas à s'imposer vraiment ni dans ces pays ni plus au Nord.

Pochard (1964) en faisant porter ses investigations sur les deux modes de multiplication semis et bouturage, sur les deux saisons de culture printemps et automne, sur l'échelonnement des interventions, réunit des informations plus explicatives et peut ainsi formuler des conclusions plus fondamentales. Les plantes issues de semis ne sont pas aptes à monter dans n'importe quelles conditions. La gibbérelline pourrait « provoquer une accélération des processus qui précèdent la différenciation de l'ébauche de capitules en conditions de moins en moins inductives », toutefois cette substance est inapte à provoquer le virage floral en conditions non inductives; Gerakis (1968) soutient au contraire qu'elle peut se substituer totalement à la vernalisation. Par contre, les plantes issues de boutures sont toujours aptes à monter, mais à des époques différentes selon les modalités de

culture, c'est-à-dire dans les expérimentations de POCHARD, en juin ou en septembre. La gibbérelline apportée 40 jours, dans le premier cas, ou 70 à 25 jours dans le second, avant le virage floral du témoin, n'avance la montaison que de respectivement 7 et 15 jours. Vraisemblablement, elle ne fait qu'accélérer l'allongement de l'axe inflorescentiel.

En définitive, toutes ces recherches attirent particulièrement l'attention sur l'importance de l'époque de traitement et c'est pour l'avoir négligé que beaucoup d'expérimentateurs ont échoué.

## Matériel et méthode

Le souci de tirer de l'essai des enseignements à la fois généralisables et pratiques implique le choix de la saison de culture, de la variété et du type de traitement. Il nécessite également l'observation attentive de la croissance et du développement.

L'intérêt d'un gain de précocité est, en France, surtout marqué pour les cultures de pleine saison et les variétés à cycle long (voir § « Discussion »). Nous avons donc choisi d'expérimenter sur « Blanc Hyérois » en culture dite de printemps. Cette option permet par ailleurs une comparaison avec les résultats de DE ANGELIS et une possibilité de généralisation à la Bretagne.

Compte tenu de la discussion précédente, il a paru préférable de multiplier les dates d'application et de tester seulement deux doses en une seule pulvérisation. La gibbérelline utilisée est $GA_3$ sous forme de produit commercial « Berelex » (ICI). On savait que 5 mg par plante provoquent une certaine élongation de l'axe et que 10 mg peuvent au moins concourir à la mise à fleur de semis en jours longs (FOURY, résultats non publiés). Ces deux doses, bien que 3 et 6 fois plus fortes que celle préconisée par le fabricant ont donc été adoptées.

Pour réduire au minimum l'hétérogénéité physiologique des plantes, nous avons utilisé des « racinés de pépinière ». L'essai a été mis en place le 12 août 1975 au Lycée agricole d'Hyères.

Le dispositif adopté est un bloc de 3 répétitions de chacune 13 plantes. Les traitements sont les suivants :

| | |
|---|---|
| $T_1$ = 10 mg le 14/10 | |
| $T_2$ = 10 mg le 7/11 | |
| $T_3$ = 10 mg le 21/11 | $T_6$ = 5 mg le 21/11 |
| $T_4$ = 10 mg le 1/12 | $T_7$ = 5 mg le 1/12 |
| $T_5$ = 10 mg le 17/12 | $T_8$ = 5 mg le 17/12 |
| | $T_9$ = 5 mg le 31/12 |
| | $T_{10}$ = 5 mg le 30/1 |
| | $T_{11}$ = 5 mg le 28/2 |
| | $T_{12}$ = témoins non traités. |

Les contrôles effectués sont les suivants :

— Rythme d'émission des feuilles sur 13 plantes témoins (on sait d'expérience que ce rythme n'est que temporairement affecté par $GA_3$);
— Prélèvement et examen à la loupe binoculaire de 6 apex non traités à chaque date de traitement;

— Prélèvement et examen de 6 apex traités (2 dans chaque répétition) et de 6 apex témoins (hors dispositif expérimental) à chacun des temps suivants :
- $GA_3$ + 15 jours
- $GA_3$ + 30 jours
- $GA_3$ + 45 jours;

— Datation, sur les plants non prélevés, du stade A, de la récolte du capitule de premier ordre;

— Pesées, mensurations et détermination du stade (longueur d'une fleur centrale) du capitule de premier ordre;

— Comptage et pesée de chaque récolte et de chaque répétition.

Selon les mesures, l'interprétation statistique des résultats est conduite sur les moyennes des 3 répétitions ou sur les observations individuelles. Dans tous les cas le seuil de signification de 5 p. 100 a été adopté.

## Résultats

Nous présenterons successivement les observations relatives à l'émission des feuilles, au virage floral, les mesures d'élongation de la tige, et les caractères d'importance pratique : précocité et déroulement de la récolte, rendements et aspect des capitules.

### 1. — *Rythme d'émission des feuilles*

De la plantation à environ un mois avant le virage floral, le rythme d'émission des feuilles des plantes témoins est relativement lent; il peut être assimilé à une fonction linéaire du temps ($y = 0{,}21x - 1{,}72$). Puis, il s'accélère brusquement jusqu'au virage floral. Les feuilles cessent alors d'être formées puisque l'inflorescence est terminale, mais les bractées d'involucre sont émises sur un rythme

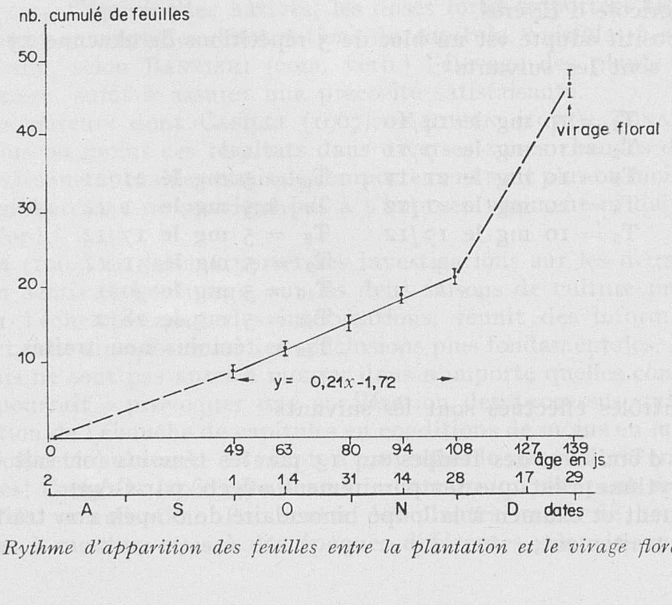



FIG. 1. — *Rythme d'apparition des feuilles entre la plantation et le virage floral (témoins)*

précipité. Les incidences climatiques ne sont pas décelables; cela peut tenir à l'imprécision des mesures, mais surtout, semble-t-il, à l'influence relativement faible des conditions thermiques sur cette manifestation du développement (fig. 1).

La comparaison du nombre de feuilles émises par les plantes traitées et les témoins, 15, 30 et 45 jours après l'apport de gibbérelline paraît donner l'avantage aux premières (12 couples sur 15) mais les différences sont rarement significatives (3 fois sur 15). L'imprécision de la méthode de repérage des feuilles ainsi que les allongements différents des tiges (§ 3) rendent délicate l'interprétation.

## 2. — *Virage floral*

L'apex végétatif est une large calotte sphérique; juste avant l'émission des premières bractées il devient ogival ce qui implique un certain allongement. Par convention, tous les apex ayant cette forme sont dits « floraux » car le virage floral est alors amorcé et, dans les conditions naturelles, il est irréversible.

Les deux premiers apex « floraux » sur six témoins examinés, ont été repérés le 17 décembre. Compte tenu de l'ensemble des observations on peut estimer que le phénomène débute le 4 décembre, s'accélère entre le 10 décembre et le 16 janvier et s'achève le 30 janvier (fig. 2). Sa durée est donc de l'ordre de deux mois. L'apport de $GA_3$ paraît diminuer la durée de cette phase et ce d'autant plus qu'il est plus proche du virage floral : ainsi on passe de 50 jours pour $T_1$ à 45 jours pour $T_2$ et 38 jours pour $T_4$ au lieu de 60 jours pour le témoin, toutefois ces différences ne sont pas significatives. Pour chacun des traitements on peut déterminer graphiquement la date où 50 p. 100 des apex deviennent floraux et calculer les dates moyennes du stade A (POCHARD, 1962) et de la récolte du capitule de premier ordre. Afin de faciliter l'analyse, ces données ont été transformées en durées depuis la plantation.

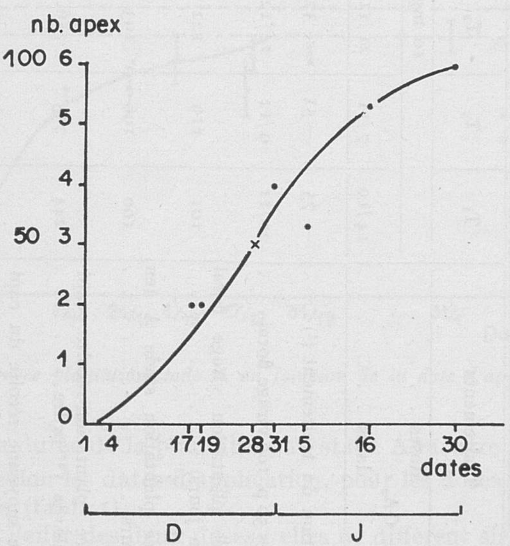



FIG. 2. — *Évolution du virage floral des témoins : nombre d'apex floraux pour 6 examinés*

TABLEAU I

*Comparaison du virage floral, du stade A, et de la date de récolte du capitule de premier ordre (moyennes)*

| Traitements | $T_1$ | $T_2$ | $T_3$ | $T_4$ | $T_5$ | $T_6$ | $T_7$ | $T_8$ | $T_9$ | $T_{10}$ | $T_{11}$ | $T_{12}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $GA_3$ doses . . . . . . . | 10 mg | | | | | 5 mg | | | | | | |
| $GA_3$ dates . . . . . . . | 14/10 | 7/11 | 21/11 | 1/12 | 17/12 | 21/11 | 1/12 | 17/12 | 31/12 | 31/1 | 28/2 | |
| Position du traitement (1) . . . | — 75 | — 51 | — 37 | — 27 | — 11 | — 37 | — 27 | — 11 | + 3 | + 34 | + 62 | |
| Dates 50 p. 100 virage floral . . | 21/11 | 9/12 | 12/12 | 15/12 | 24/12 | 12/12 | 15/12 | 27/12 | 27/12 | 28/12 | 28/12 | 28/12 |
| Durée plantation virage floral (en jours) . . . . . . . . . | 101 | 119 | 122 | 125 | 134 | 122 | 125 | 137 | 137 | 138 | 138 | 138 |
| Durée plantation stade A (en jours) . . . . . . . . . . . | 160 | 196 | 193 | 200 | 196 | 202 | 205 | 204 | 204 | 208 | 212 | 211 |
| Durée plantation-récolte capitule de 1er ordre. . . . . | 244 | 255 | 256 | 261 | 260 | 261 | 262 | 261 | 261 | 263 | 263 | 262 |
| Date moyenne récolte du capitule de 1er ordre. . . . . | 13/4 | 24/4 | 25/4 | 30/4 | 29/4 | 30/4 | 1/5 | 30/4 | 30/4 | 2/5 | 2/5 | 1/5 |

(1) Position exprimée en jours écoulés entre la date du traitement et le virage floral de la moitié des plantes témoins.

L'apport de $GA_3$ sur un apex encore végétatif provoque rapidement le virage floral (tabl. 1). Le gain de temps sur le témoin est d'autant plus petit que le traitement est plus proche du virage floral : il diminue en gros, de deux jours à chaque fois que l'application de $GA_3$ est rapprochée d'un jour du virage floral. Si le coefficient de corrélation entre les deux variables est excellent ($r = 0{,}979$), leur liaison n'est probablement pas linéaire. Ainsi le premier traitement du 14 octobre (— 75) procure un gain de 37 jours, ceux effectués au-delà du 15 décembre n'ont pratiquement aucun effet (fig. 3). Cependant, les doses fortes (10 mg ou plus) pourraient compenser partiellement cette baisse d'efficacité (gain $T_5$ = 4 jours et $T_8$ = 1 jour seulement).

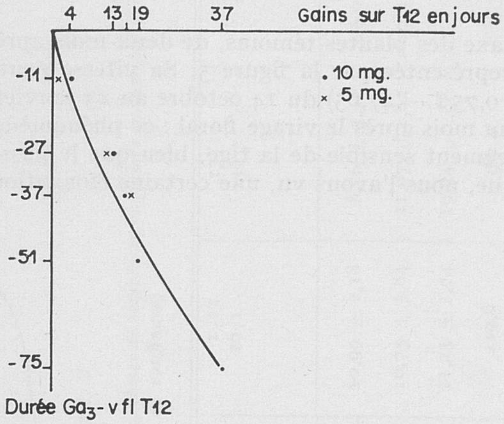



FIG. 3. — *Relation entre l'époque de traitement $GA_3$ et le gain de précocité du virage floral*

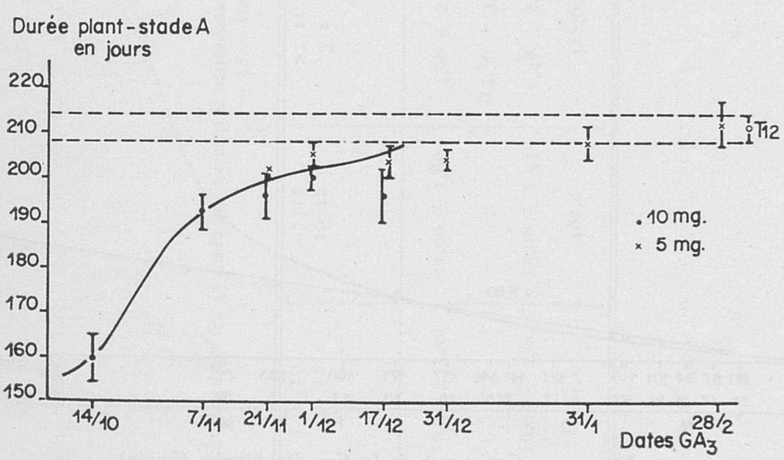



FIG. 4. — *Durée plantation-stade A en fonction de la date d'application $GA_3$*

L'analyse de la durée de la plantation au stade A montre :

— des différences selon les dates d'application, pour les doses fortes comme pour les doses faibles (tabl. 1);

— la similitude de l'effet des deux doses : elles ne diffèrent significativement que le 17 décembre (traitement tardif);

— une liaison significative mais non linéaire entre la durée plantation-stade A et la date d'application de $GA_3$ pour la dose 10 mg (fig. 4).

L'analyse de la durée du cycle (plantation-récolte du capitule de premier ordre) montre que seuls les 3 premiers traitements diffèrent du témoin : le gain de précocité est de 18 jours pour $T_1$ et de 7 jours seulement pour $T_2$ et $T_3$ (tabl. 1).

En définitive, l'efficacité de la gibbérelline diminue d'une part avec la tardiveté du traitement, et d'autre part, pour une date donnée, du virage floral à la récolte.

### 3. — *Croissance de la tige, hauteur de la hampe florale*

La croissance de l'axe des plantes témoins, de deux mois après la plantation jusqu'à la récolte est représentée par la figure 5. Sa vitesse peut être considérée comme constante ($h = 0{,}75\ t - 47{,}65$) du 14 octobre au 23 janvier; elle ne paraît s'accélérer qu'environ un mois après le virage floral : ce phénomène ne serait donc pas précédé d'un allongement sensible de la tige, bien que le passage de l'apex à la forme ogivale implique, nous l'avons vu, une certaine élongation.

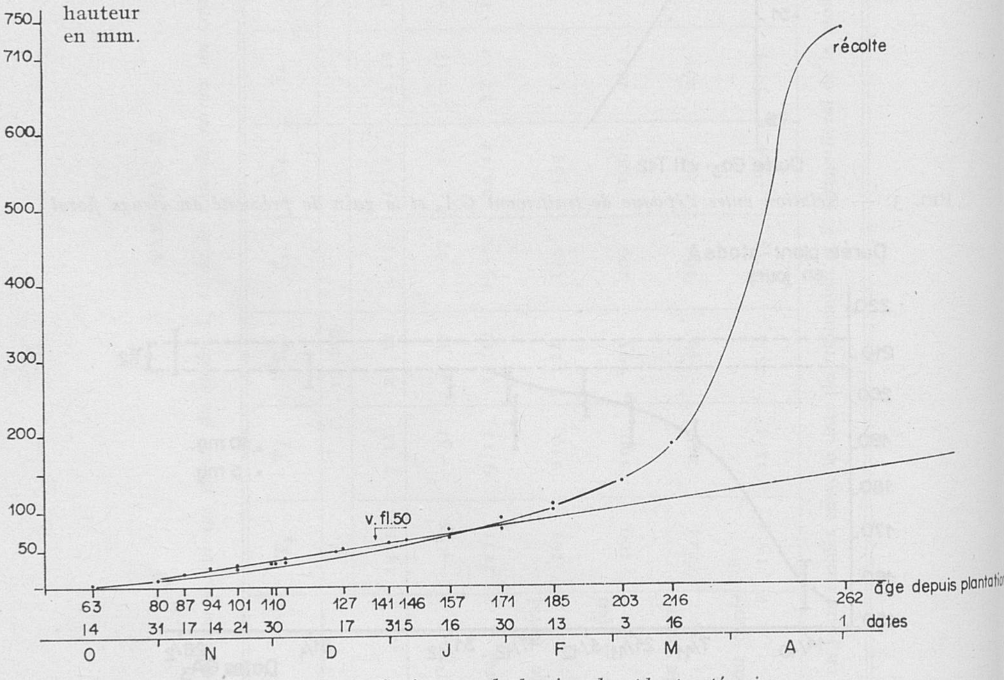



FIG. 5. — *Croissance de la tige des plantes témoins*

Quinze jours après une pulvérisation de gibbérelline, la tige est plus longue que celle des témoins. Le rythme de croissance est généralement constant durant les 45 jours qui suivent le traitement. On peut donc comparer les coefficients de régression des droites entre $GA_3$ et $GA_3 + 45$ jours (tabl. 2). Pour chacun des traitements 0, 5, 10 mg, ils ne varient pas systématiquement avec la date de traitement; les différences sont rarement significatives. Le rythme de croissance des

## TABLEAU 2

*Croissance de la tige dans les 45 jours qui suivent le traitement (coefficients de régression exprimés en mm par intervalle de 15 jours ; $\pm 2\sigma$ = limites de confiance)*

| Dates $GA_3$ + 0 / $GA_3$ + 45 — Doses $GA_3$ | 14/10 30/11 | 7/11 19/12 | 21/11 5/1 | 1/12 16/1 | 17/12 30/1 | 31/12 13/2 | 30/1 16/3 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 (témoins) . . . . | 10,55 ± 1,30 | 11,90 ± 1,80 | 4,90 ± 2,32 | 10,99 ± 2,18 | 8,76 ± 3,44 | 16,05 ± 3,04 | 38,75 ± 7,24 |
| 5 mg . . . . . . | — | — | 13,56 ± 3,10 | 16,75 ± 3,84 | 11,67 ± 2,82 | 17,55 ± 3,60 | 55,58 ± 9,04 |
| 10 mg . . . . . . | 16,95 ± 2,00 | 15,96 ± 1,34 | 6,48 ± 2,44 | 21,23 ± 1,74 | 19,74 ± 1,88 | — | — |
| $\Sigma$ t° de période . . | 334,2 | 462,0 | 428,6 | 419,6 | 362,4 | 387,7 | 695,3 |

témoins est généralement significativement inférieur à celui des plantes traitées; l'effet dose n'est important que le 17 décembre; l'action des faibles doses au-delà du virage floral paraît réduite. Donc l'action de la gibbérelline sur la croissance est nette et semble indépendante de l'époque d'application au moins entre le 14 octobre et le 30 janvier.

Au moment de la récolte, la hauteur de la hampe varie avec les traitements (tabl. 3). L'analyse bloc montre que seuls $T_1$, $T_2$, $T_3$ et $T_5$, soit les seules doses fortes appliquées précocement, diffèrent du témoin.

L'effet dose ($T_3/T_6$, $T_4/T_7$, $T_5/T_8$) n'est pas significatif. La comparaison des mesures plante à plante permet l'établissement d'une régression linéaire significative de $T_1$ en $T_4$. Lorsque la gibbérelline est apportée au plus tard 27 jours avant le virage floral, la hampe est raccourcie et ce d'autant plus que le traitement est plus précoce. Au-delà, la taille de la hampe n'est pas modifiée (fig. 6).

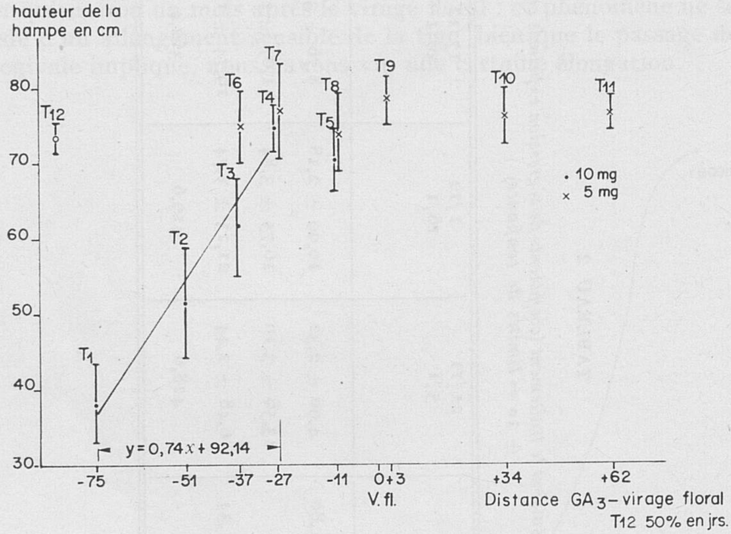



FIG. 6. — *Variation de la hauteur de la hampe florale avec le stade d'application de $GA_3$*

Il est difficile de préciser si cet effet est direct car les plantes les plus courtes sont également plus précoces (tabl. 1) et poussent par conséquent sous des températures plus basses et des jours plus courts.

### 4. — *Déroulement de la récolte et production*

La récolte de $T_1$ débute le 1er avril soit environ 20 jours avant le témoin, celles de $T_2$ et $T_3$ commencent le 8 avril. Jusqu'au 29 avril les productions de $T_1$ et $T_2$ sont significativement supérieures à celles des autres traitements qui ne diffèrent pas du témoin; $T_1$ reste supérieur jusqu'au 5 mai (fig. 7).

Les rendements totaux ne sont pas significativement différents; en valeur absolue, ils croissent cependant à peu près régulièrement de $T_1$ à $T_{12}$.

La dissection de plantes témoins le 3 mars, fait apparaître la séquence suivante du haut en bas de la hampe : 4 à 5 aisselles vides à feuilles entières; 3 capi-

TABLEAU 3

*Hauteur en centimètres de la hampe florale au moment de la récolte*

| Doses \ Dates $GA_3$ | 14/10 | 7/11 | 21/11 | 1/12 | 17/12 | 31/12 | 30/1 | 28/2 | Témoin |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| o (témoin) . . | | | | | | | | | $T_{12}$ : 73 |
| 5 mg . . . . . . | — | — | $T_6$ : 73 | $T_7$ : 75 | $T_8$ : 73 | $T_9$ : 78 | $T_{10}$ : 77 | $T_{11}$ : 76 | |
| 10 mg. . . . . . | $T_1$:38(*) | $T_2$:52(*) | $T_3$:61(*) | $T_4$:74(*) | $T_5$:68(*) | | | | |

(*) Valeurs différentes de $T_{12}$ au seuil 5 p. 100.

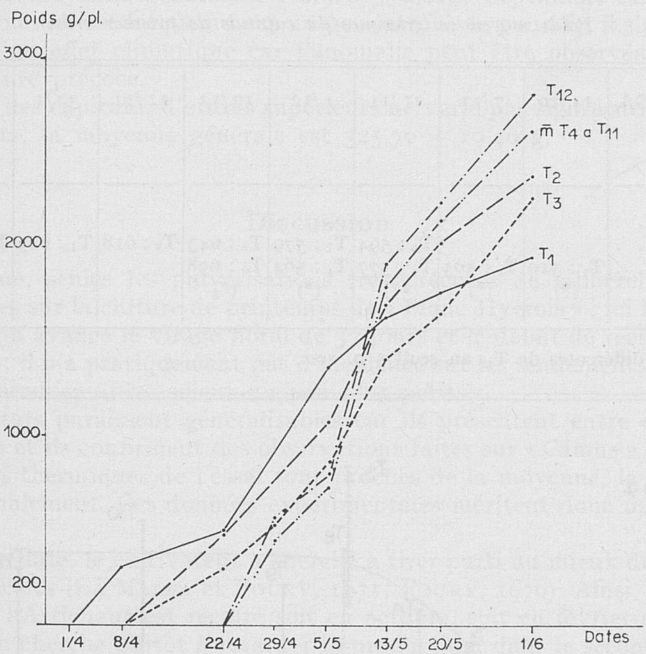



FIG. 7. — *Déroulement des récoltes (moyennes des 3 répétitions)*

tules de deuxième ordre à peine plus petits que l'inflorescence terminale, leur axe comporte 5 nœuds, les aisselles distales étant vides; 5-6 bourgeons axillaires se transformant en capitules; 4-5 bourgeons axillaires mal formés évoluant en capitules avortés. Tout se passe comme si le capitule terminal inhibait la formation des bourgeons axillaires les plus proches, puis favorisait la transformation rapide des méristèmes axillaires suivants, cette action diminuant du haut vers le bas. La structure de $T_{10}$ est identique, donc l'apport tardif de gibbérelline ne modifie pas la structure de la hampe florale. Les traitements précoces ne l'affectent pas

davantage, semble-t-il, car on ne peut mettre en évidence de différence significative de ramification dont la moyenne générale est 5,84 ± 0,30. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par d'autres auteurs.

### 5. — *Poids et forme des capitules*

La comparaison du poids des capitules est toujours délicate dans le cas de petits effectifs car il n'existe pas de critère précis de « maturité ». Aussi a-t-on souvent recours à la comparaison de regression poids/âge celui-ci étant défini par la longueur des fleurs centrales. Ici, cette régression n'est significative que pour 4 traitements; l'écart-type de la moyenne de la longueur de la fleur est très faible (environ 4,5 %). Pour un traitement donné, la récolte a donc été effectuée au même stade. Il existe une liaison négative, mais non significative, entre les

TABLEAU 4

*Poids moyen en grammes du capitule de premier ordre*

| Doses \ Dates $GA_3$ | 14/10 | 7/11 | 21/11 | 1/12 | 17/12 | 21/12 | 30/1 | 28/2 | Témoin |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 (témoin) . . . | | | | | | | | | $T_{12}$ : 674 |
| 5 mg. . . . . . | | | $T_6$ : 594 | $T_7$ : 579 | $T_8$ : 643 | $T_9$ : 618 | $T_{10}$: 623 | $T_{11}$: 625 | |
| 10 mg . . . . . | $T_1$ : 510 (*) | $T_2$ : 505 (*) | $T_3$ : 577 (*) | $T_4$ : 564 (*) | $T_5$ : 698 (*) | | | | |

(*) Valeurs différentes de $T_{12}$ au seuil 5 p. 100.

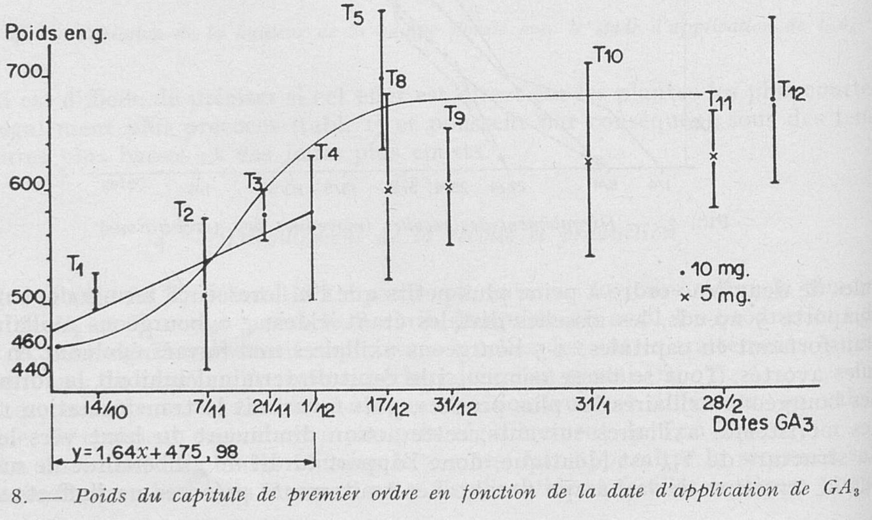



FIG. 8. — *Poids du capitule de premier ordre en fonction de la date d'application de $GA_3$*

poids moyens et les stades moyens des divers traitements, les capitules les plus petits ont donc été ramassés à un stade plus avancé, ce qui est normal, le choix s'exerçant à l'œil. La comparaison des poids moyens n'en est pas moins légitime.

L'analyse des données du tableau 4 permet de distinguer assez clairement deux groupes : $T_1$ à $T_4$ dont les poids sont plus faibles et les autres. La figure 8 montre qu'il existe une liaison linéaire significative entre le poids du capitule de premier ordre et les quatre premières dates de traitements à forte dose. Lorsque la gibbérelline est apportée au plus tard 27 jours avant le virage floral, le poids du capitule de premier ordre est diminué et ce d'autant plus que le traitement est plus précoce. Par contre les traitements ultérieurs n'ont aucune action. Le parallélisme avec la hauteur de la hampe est frappant, dans ce cas également les conditions thermiques pourraient être en cause. L'effet dose n'est significatif que pour le couple $T_8/T_5$, le poids de celui-ci étant exceptionnellement élevé, on peut estimer qu'il n'y a pas d'effet dose.

Par contre la forme de ces capitules ne paraît pas modifiée pour les traitements à la gibbérelline; les valeurs du rapport hauteur/diamètre ne varient pas significativement, la moyenne générale est $0{,}918 \pm 0{,}018$. Cependant l'extrémité des bractées du sommet est fréquemment un peu retroussée pour $T_1$; il s'agit vraisemblablement d'un effet climatique car l'anomalie peut être observée de temps à autre en culture précoce.

Le poids des capitules d'ordres supérieurs ne varie pas significativement avec les traitements; la moyenne générale est $325{,}70 \pm 19{,}40$ g.

## Discussion

En résumé, seules les pulvérisations très précoces de gibbérelline ont des effets pratiques sur la culture de printemps de « Blanc Hyérois » : ici le traitement du 14 octobre a avancé le virage floral de 37 jours et le début de récolte de seulement 18 jours; il n'a pratiquement pas d'incidence sur les rendements bien que les capitules de premier ordre soient un peu plus petits.

Ces résultats paraissent généralisables car ils présentent entre eux une certaine cohésion et ils confirment des observations faites sur « Camus » en Bretagne. Les conditions thermiques de l'essai sont proches de la moyenne, la culture s'est déroulée normalement. Ces données expérimentales méritent donc une discussion approfondie.

De longue date, le cultivateur a cherché à tirer parti au mieux des conditions climatiques locales (La Malfa et Foury, 1971; Foury, 1976). Ainsi, dans le Midi de la France, l'Artichaut est récolté soit en octobre, soit en février-mai. Dans le premier cas on cherche plutôt à retarder la production, dans le second à la hâter. Pour « Violet de Provence » ces résultats sont obtenus par des façons culturales parfaitement au point, dans notre contexte climatique. Par contre, le cycle plus long et la méthode de multiplication plus rudimentaire de « Blanc Hyérois » ont pour conséquence une récolte plus tardive qui n'utilise pas au mieux les conditions climatiques du printemps. En Bretagne, sauf pour les « drageons » (production de première année à l'automne) le cycle naturel est suivi de plus près, mais on peut s'interroger sur l'intérêt et la possibilité d'un gain de précocité au printemps. *Cette réflexion montre qu'*à priori *l'intérêt de la gibbérelline est limité aux cultures de printemps dans le Midi et de pleine saison en Bretagne.* Encore faut-il que cette substance soit efficace dans ces conditions et que le climat n'en limite pas trop la portée.

Les Artichauts issus de bouture sont toujours aptes à monter au moins sous nos latitudes méridionales, et la mise à fleur paraît essentiellement commandée par l'intensité et la durée de la phase végétative. Ainsi à peu près régulièrement « Violet de Provence » émet 25 feuilles en 80 jours pour monter avant l'hiver, et 30 feuilles en 185 jours pour monter après l'hiver. Cependant, le froid et les jours courts ne sont peut-être pas sans action, notamment sur la structure de la hampe florale; au printemps d'assez nombreux bourgeons axillaires de la base se transforment en capitules, en automne seuls les 3 à 4 nœuds médians sont fertiles. D'autre part, POCHARD (1964) a montré qu'en conditions non inductives, l'apport répété de gibbérelline allonge considérablement l'axe de plantes issues de semis sans pour autant provoquer l'ébauche de capitule, élongation et mise à fleur ne sont donc pas forcément liées. Cependant, dans cet essai ils pourraient l'être; nous avons en effet constaté que la gibbérelline provoquait une rapide, mais sans doute fugace croissance de la tige et peut-être un léger accroissement du rythme d'émission des feuilles. Cette double action pourrait perturber le système de corrélation de la zone apicale et son fonctionnement plastochronique et permettrait l'activation du méristème d'attente. Une analyse plus fine serait nécessaire pour juger cette hypothèse, cependant la remarquable simultanéité des époques d'efficacité optimale de la gibbérelline en Israël et en Provence paraît un argument favorable. En effet, les conditions climatiques de ces deux zones sont bien différentes mais les plantes étudiées par DE ANGELIS ont été mises en végétation à peu près à la même date que les nôtres.

Le gain de précocité à la récolte peut atteindre 110 jours en Israël et seulement 22 jours dans nos conditions pour une intervention à peu près contemporaine. Par ailleurs, nous avons constaté que pour une date donnée de traitement, le gain de précocité diminue avec le temps. Les températures basses et peut-être les jours courts peuvent être responsables du ralentissement de la croissance et bien entendu ces facteurs défavorables s'accentuent aux latitudes plus élevées.

La ramification de la hampe florale paraît dépendre essentiellement de la saison et partant de la durée du cycle : elle est, pour une variété donnée, toujours plus importante à l'automne qu'au printemps. Dans cet essai la gibbérelline n'a pas d'action. En région plus méridionale, un accroissement de la ramification a été noté parfois. En réalité dans ces zones, deux récoltes se chevauchent plus ou moins de novembre à mai, avec une interruption ou un ralentissement en janvier-février. La gibbérelline, en augmentant la précocité, permet justement cette double production à un plus grand nombre de plantes. D'où un accroissement du nombre de capitules par touffe mais pas forcément par hampe, et le profil résolument bimodal de la récolte observé par DE ANGELIS. Dans le cas de nos cultures de printemps la faible avance donnée par la gibbérelline ne permet évidemment pas une deuxième montaison.

## Conclusion

En définitive, bien que les phénomènes fondamentaux paraissent identiques et quasiment contemporains, l'utilisation pratique de la gibbérelline dépend probablement surtout des conditions de remise en végétation et du régime thermique hivernal.

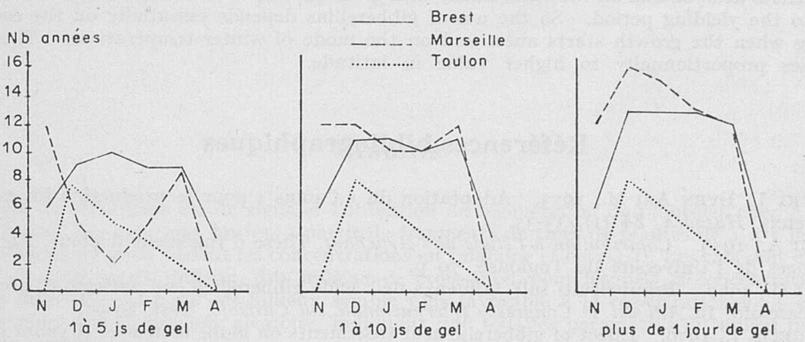
Dans les régions méridionales, la récolte hivernale étant possible, une remise en végétation hâtive accroît la précocité. Mais cela implique une grande consommation d'eau, le plus souvent rare, chère et mal valorisée par l'Artichaut. De plus, à la suite d'un départ trop anticipé, on observe fréquemment une atrophie non parasitaire du capitule de premier ordre qui devient invendable (DE ROBERTIS,

TABLEAU 5

*Risques de gel sous abri météo (période 1960-1976)*
*Nombre d'années sans gel d'après résumés mensuels du temps en France (ONM)*

| Stations \ Mois | Novembre | Décembre | Janvier | Février | Mars | Avril |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Brest | 10 | 3 | 3 | 3 | 4 | 12 |
| Marseille | 4 | 0 | 1 | 3 | 4 | 16 |
| Toulon | 16 | 8 | 10 | 12 | 14 | 16 |

*Fréquences du nombre de jours de gel*




*Nombres moyens mensuels du nombre de jours de gel*

| Stations \ Mois | Novembre | Décembre | Janvier | Février | Mars | Avril |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Brest | 0,75 | 5,19 | 4,43 | 4,81 | 3,00 | 0,37 |
| Marseille | 1,81 | 8,56 | 9,19 | 5,62 | 2,25 | 0,00 |
| Toulon | 0,00 | 0,87 | 1,50 | 0,94 | 0,37 | 0,00 |

1967). Il paraît donc intéressant de faire démarrer la végétation à une date plus raisonnable et d'apporter très tôt de la gibbérelline.

Dans les régions plus septentrionales, c'est-à-dire au-delà de la Provence littorale, l'eau est généralement plus abondante, l'atrophie moins redoutable, la montaison hivernale exclue et la récolte de fin d'hiver risquée à cause de la fréquence des gels (tabl. 5). L'intérêt de la gibbérelline paraît plus réduit; il convient de planter ou de remettre en végétation juste assez tôt pour permettre aux premières récoltes d'échapper aux gels printaniers. Cette méthode est d'ailleurs parfaitement au point pour « Violet de Provence ».

*Reçu pour publication en décembre 1976.*

## Remerciements

L'expérimentation a été conduite au Lycée d'Hyères grâce à la bienveillance de son directeur M. Rabiniaux et à l'efficace dévouement de M. J.-C. Moulin, Ingénieur des travaux; qu'ils acceptent l'expression de notre gratitude.

## Summary

*Effect of gibberellins sprays on a spring crop of artichoke cv. « Blanc Hyérois »*

Research data on the effect of gibberellins on the artichoke are often contradictory but reveal the importance of the stage of spray. The aim of this experiment is to follow the plant's development under practical conditions (varieties and period of growing) as affected by gibberellins in order to determine general utilization principles. Such a substance may increase precocity but doesn't affect yield and its components. Its efficiency decreases on the one hand when the treatment is delayed and on the other hand, for a given period, from the biginning of the flowering stage to the yielding period. So the use of gibberellins depends essentially on the conditions existing when the growth starts anew and on the mode of winter temperatures. Their effect decreases proportionnally to higher value in latitude.

## Références bibliographiques

Basnizki J., Even Ari M., 1973. Adaptation du « Camus » pour la production hivernale (en hébreux). *Hasadeh*, **34** (1), 33-35.

Bonnet A., 1959. *Contribution à l'étude de l'Artichaut.* Thèse d'Ingénieur docteur, Faculté des Sciences de l'Université de Toulouse, 70 p.

Casilli O., 1967. Primi risulti sull' influenza dell acide gibberellico sull anticipo di produzione del carciofo. In *Atti del* **1°** *Congresso internazionale sul Carciofo*, Bari, 89-90.

de Angelis J., 1970. Effect of gibberelic acid treatments on globe artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Israël J. agric. Res.*, **20** (4), 149-157.

de Angelis J. (actually de Malach J. G.), Sachs M., Roten R., 1973. Timing and optimal concentration of gibberellic acid treatments for forcing yield of globe artichoke (*Cyanara scolymus* L.) in Nuovi studi sul carciofo. **2°** *Congresso internazionale sul Carciofo*, Bari, 633-642.

de Robertis A., 1967. Ecologia e bioritmi del carciofo in relazione all atrofia delle infiorescenze. In *Atti del* **1°** *Contresso internazionale di studi sul Carciofo*, Bari, 193-200.

Foury C., 1976. L'Artichaut. *Bull. techn. Inform.*, n° 311, 415-432.

Gerakis P. A., 1968. *The adaptation of globe Artichoke* (Cynara scolymus L.) *to annual culture.* a Ph. D. thesis. Michigan State University, 88 p., 11 fig., 15 tabl., 116 réf. bibl.

La Malfa G., Foury C., 1971. Aspects de la multiplication végétative de l'Artichaut dans le bassin occidental de la Méditerranée. *Pépiniéristes Hort. Maraîch.*, n° 114, 19-29.

Pochard E., 1962. Travaux sur l'Artichaut. Définition des stades de développement. *Rapport annuel de la Station d'Amélioration des Plantes maraîchères d'Avignon-Montfavet, I.N.R.A.*, 5-14.

Pochard E., 1964. Modifications de la croissance et du développement de l'Artichaut provoquées par la gibbérelline. *Ann. Amélior. Plantes*, **14** (2) 219-225.

Radwan A., Stino G. R., 1973. Les effets de l'acide gibberellique sur le rendement et la précocité des Artichauts. *Rev. hort.*, n° 2311, 53-55.

Rubatzky V. E., Snyder M. J., Sciaroni R. H., 1973. California globe artichoke production. Present situation and future potentials. In *Nuovi Studi sul carciofo.* **2e** *Congresso internazionale su Carciofo*. Bari, 1005-1023.

Snyder M. J., Welch N. C., Rubatzky V. E., 1971. Influence of gibberellin on time of but development in globe Artichoke. *Hortscience*, **6** (5), 484-485.

Zanardi D., Loi T., 1967. Influenzo della gibberellina sulla precocita e produzione del carciofo. In *Atti del* **1°** *Congresso internazionale sul Carciofo*, Bari, 83-87.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (4), 427-433.

# Initiation de cals et néoformation de bourgeons chez *Echinochloa crus galli* (L.) PB

A. DESHAYES et R. BRUNEAU

*Laboratoire de Mutagenèse,*
*Station d'Amélioration des Plantes,*
*Centre de Recherches de Dijon, I.N.R.A.,*
*B.V. 1540, 21034 Dijon Cedex*

## Résumé

L'objet de cette note est de signaler l'obtention de régénération de plantules chez *Echinochloa crus galli*. Les cals sont initiés, à partir de fragments de tiges de plantes de 4 à 5 feuilles, sur cinq milieux où seuls varient les concentrations en thiamine et en 2-4-D. Les cals sont ensuite repiqués sur cinq autres milieux, dits milieux de croissance, pour lesquels la concentration en 2-4-D est plus faible. Un de ces milieux semble plus favorable à la régénération mais celle-ci reste cependant un phénomène aléatoire, indiquant que tous les paramètres du milieu ne sont pas encore maîtrisés.

Une étude de la taxonomie d'*Echinochloa crus galli* par électrophorèse (GASQUEZ et COMPOINT, 1976) a permis d'individualiser des groupes de populations dont les protéinogrammes diffèrent en fonction de l'eau dans le sol et surtout en fonction de l'application répétée de triazines dans les monocultures de maïs. Concernant ce dernier point, il a en effet été constaté que l'efficacité de ces substances tendait à diminuer d'années en années; ceci a conduit à considérer ces herbicides comme des agents de sélection très puissants entraînant une différenciation génétique intraspécifique importante. Il était donc intéressant de chercher des corrélations entre la variabilité génétique mise en évidence par les bandes électrophorétiques et la plus ou moins grande résistance à des doses variées d'herbicide.

Pour aborder ce problème, il est apparu que la culture *in vitro* offrait de nombreux avantages en permettant une bonne multiplication végétative et des traitements au niveau cellulaire. Le travail présenté ici porte uniquement sur les conditions d'initiation et de croissance des cals ainsi que sur les conditions de régénération des plantules.

L'obtention de cals et la régénération de plantules ont déjà été réalisés sur plusieurs graminées : le Sorgho (MASTELLER et HOLDEN, 1970), le Blé (SHIMADA *et al.*, 1969), le Riz (TAMURA, 1968), la Canne à sucre (HEINZ et MEE, 1969), l'Orge

(CLAPHAM, 1973), le Maïs (GREEN et PHILLIPS, 1975, le Ray-grass (AHLOOWALIA, 1975). Les composants du milieu qui semblent avoir le plus d'influence sont la kinétine, l'auxine et les vitamines; parmi ces dernières, la thiamine a un effet prépondérant. Compte tenu de ces observations et de celles réalisées par ailleurs sur le Maïs (VUILLAUME et DESHAYES, 1977) qui est une espèce voisine d'*Echinochloa*, nous avons décidé dans un premier temps :

1) de ne pas ajouter de kinétine au milieu, celle-ci ayant sur le Maïs un effet fortement négatif;

2) de ne faire varier que les concentrations en thiamine et en auxine.

Dans le choix de la gamme des concentrations à utiliser, nous avons été guidé par le fait que l'initiation de cals est généralement favorisée par de plus fortes concentrations en auxine que celles requises pour la croissance et la régénération. Nous avons donc défini deux types de milieu, l'un pour l'initiation (milieux 1 à 5), l'autre pour la croissance (milieux 6 à 10).

TABLEAU I

*Concentration en 2-4-D et en thiamine pour les dix milieux*(*)

| | Milieux d'initiation | | | | | Milieux de croissance | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 2-4-D (mg/l) . . . | 5 | 5,5 | 7 | 7,5 | 8,7 | 1 | 2,5 | 3 | 4,5 | 5 |
| Thiamine (mg/l) . | 1 | 7 | 3 | 9 | 13 | 1 | 7 | 3 | 9 | 13 |

(*) Milieu de base commun aux dix milieux: solution de MURASHIGE et SKOOG (1962) pour les macro- et micro éléments, les vitamines (thiamine exceptée) et le Fer EDTA; inositol 100 mg/l, glutamine 200 mg/l, saccharose 20 g/l, agar 7 g/l.

Les explants mis en culture sont des fragments de tige de 5 mm. environ, comprenant la base du collet et l'apex, prélevés sur des plantes de 4 à 5 feuilles cultivées en conditions contrôlées (25°C, 16 h de lumière). Aussitôt après la mise en culture sur les milieux d'initiation, les tubes sont mis à l'obscurité pendant trois semaines à 22 °C pour augmenter l'efficacité de l'initiation; ils sont ensuite placés en conditions de 16 heures de lumière à 22 °C. Quinze à vingt jours après, les cals initiés sont repiqués sur les cinq milieux de croissance. Afin d'éliminer un effet éventuel du milieu d'initiation d'origine sur la croissance les cals sont repiqués milieu à milieu au bout d'un mois. Le poids de cals est alors déterminé par différence entre le poids des tubes, avant et après la mise en culture; la mesure de l'accroissement pondéral est déterminée après un mois environ.

## Résultats

1) L'initiation de cals a été obtenue sur les cinq milieux, mais l'observation révèle des différences entre eux quant aux nombre de points d'initiation et à l'importance des cals au bout d'un mois de culture. La meilleure initiation est obtenue pour les milieux 2, 3 et 4, mais sur tous les milieux, les cals apparaissent comme des masses blanchâtres assez homogènes (fig. 1) et généralement sans nécrose. Aucune initiation de racines n'a jamais été observée.

2) Vingt cals sont repiqués sans tenir compte du milieu d'origine sur chacun des cinq milieux de croissance, la majorité évolue normalement vers une masse cellulaire qui a généralement un aspect globuleux et sans nécrose (tabl. 3; fig. 2). Ces cals sont fractionnés et repiqués milieu à milieu pour la mesure de la croissance pondérale. Les variances ($s^2_{p0}$) et les moyennes ($\overline{p_0}$) pondérales des cals sont identiques sur les cinq milieux; on peut donc considérer les cinq groupes de cals mis en culture comme des échantillons de la même population (tabl. 2). Les variances des accroissements pondéraux ($s^2_{\Delta p}$), après un mois de culture, ne présentent pas de différences significatives entre elles, ce qui rend possible les comparaisons de moyennes. Les milieux 7 et 9 ne montrent pas de différences significatives et donnent la meilleure croissance, le milieu 10 donne la croissance la plus faible (tabl. 2).

TABLEAU 2

*Croissance pondérale des cals*

| | Milieux | | | | | Test de Bartlett $\chi^2 =$ | $t$ $m_{maxi} - m_{mini} = 0$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | | |
| $\overline{p_0}$ | 55,29 | 52,73 | 66,68 | 63,30 | 60,73 | | 1,65 NS |
| $s^2_{p0}$ | 457,36 | 318,97 | 436,45 | 667,88 | 403,00 | 1,40 NS | |
| $\overline{\Delta_p}$ | 151,07 | 185,97 | 149,59 | 182,20 | 117,37 | | 2,30* |
| $s^2_{\Delta p}$ | 7 854,22 | 5 305,52 | 3 216,03 | 7 162,56 | 4 874,13 | 2,33 NS | |

$\overline{p_0}$ représente le poids moyen des cals, en mg, sur chaque milieu et $\overline{\Delta_p}$ l'accroissement pondéral moyen.

3) Certains cals, tout en manifestant une certaine croissance, montrent une tendance très nette à la nécrose (tabl. 3). L'apparition des nécroses se fait de manière sectorielle et débute le plus souvent par les petites nodosités qui se forment à la surface du cal (fig. 3); la nécrose peut s'étendre très lentement à l'ensemble du cal. Certaines nodosités ont un aspect chlorophyllien mais ne correspondent pas à des structures organisées (fig. 3). Cependant, c'est à partir de ces masses chlorophylliennes, qui sont souvent entourées par des nécroses superficielles, que sont

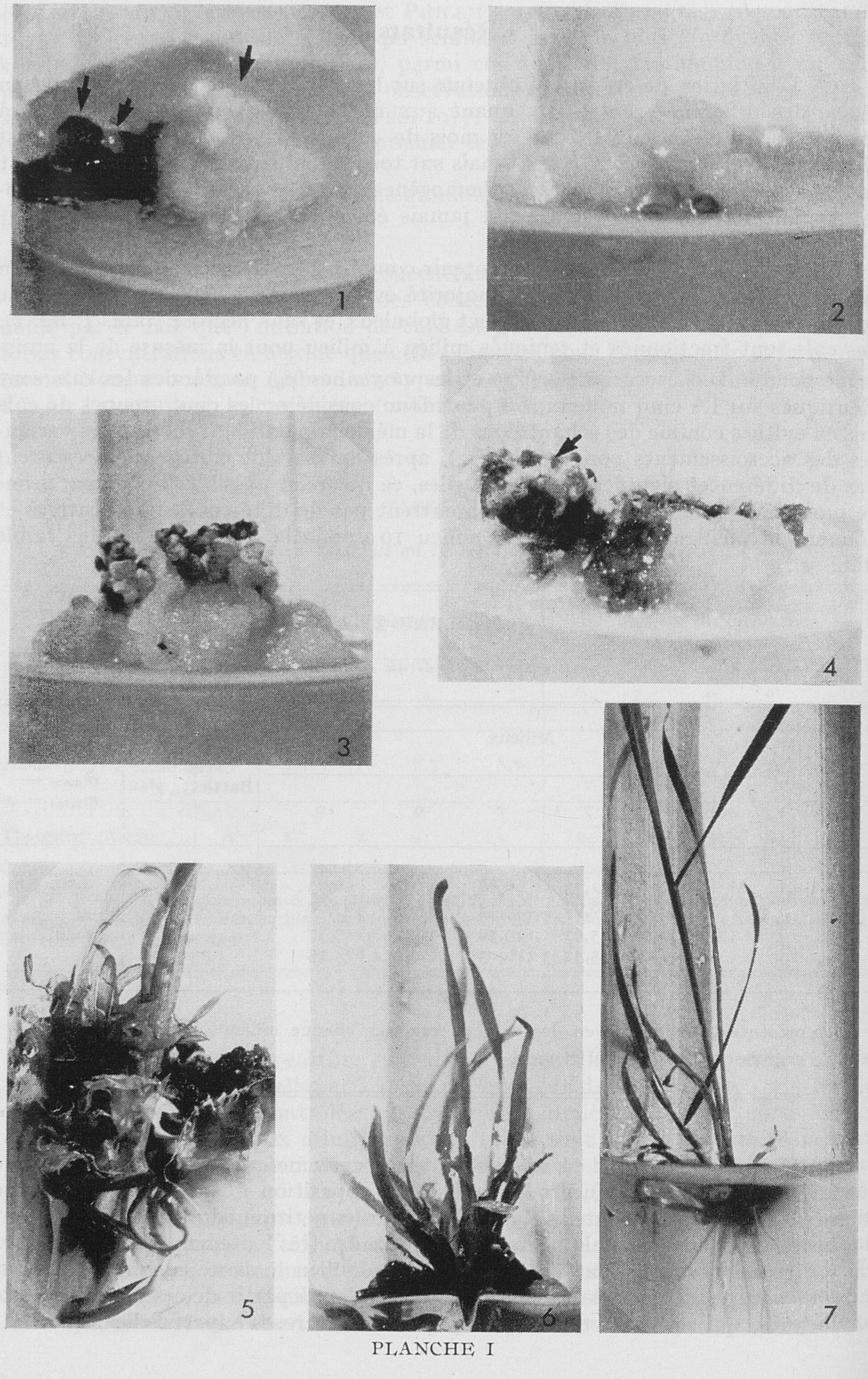



PLANCHE I

initiés les bourgeons (fig. 4). Les plantules se développent en bouquet et peuvent émettre spontanément quelques racines (fig. 5 et 6).

Lors du premier repiquage sur les milieux de croissance, des bourgeons néo-formés sont initiés sur les milieux 6-7-8 et 10 (tabl. 3). Cependant, l'apparition des bourgeons est beaucoup plus rapide et plus importante sur le milieu 7 que sur les milieux 6 et 8. Quant aux bourgeons néoformés sur le milieu 10, ils apparaissent avec dix ou quinze jours de retard sur tous les autres et en moins grand nombre.

TABLEAU 3

*Évolution des cals sur les cinq milieux de croissance après le premier repiquage*

| Milieux de croissance | Nombre de cals observés | Croissance des cals | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Sans nécrose | avec nécrose | |
| | | | sans régénération | avec régénération |
| 6 | 15 | 10 | 4 | 1 |
| 7 | 17 | 14 | 2 | 1 |
| 8 | 19 | 14 | 4 | 1 |
| 9 | 18 | 14 | 4 | |
| 10 | 19 | 17 | | 2 |

Au deuxième repiquage sur les milieux de croissance, l'initiation de bourgeons n'a été observée que sur le milieu 7 (8 tubes sur 20) et le milieu 8 (4 tubes sur 15). Des nécroses sont également observées sur le milieu 6, mais sans qu'aucune néoformation n'apparaisse, quant aux milieux 9 et 10, ils donnent des cals homogènes sans nécroses.

Parmi les milieux testés, le milieu 7 semble donc plus favorable à l'induction de la éoformation. Aussi, tous les cals nécrosés, quelle que soit leur origine, ont-ils été repiqués sur ce milieu, ce qui a permis dans la majorité des cas d'obtenir la néoformation. Le passage par cet état nécrotique qui doit correspondre à un certain état physiologique des cellules semble donc une nécessité pour que l'induction de bourgeon ait lieu car elle n'a jamais été observée sur des cals sans nécrose.

PLANCHE I

FIG. 1. — *Initiation de cals (flèches) sur un fragment de tige.*

FIG. 2. — *Cal dont la croissance se poursuit sous forme d'une masse cellulaire globuleuse*

FIG. 3. — *Cal présentant des nodosités soit légèrement nécrosées, soit chlorophylliennes, mais qui ne correspondent à aucune structure organisée.*

FIG. 4. — *Cal qui évoluera vers la néoformation à partir de points chlorophylliens d'initiation (flèches). On peut remarquer que tout le cal ne présente pas un aspect nécrosé.*

FIG. 5-6. — *Plantules néoformées sur cals.*

FIG. 7. — *Plante repiquée sur milieu sans substance de croissance, avec une partie du cal d'origine*

Quelques-uns des bourgeons néoformés ont été repiqués sur milieu de base sans substance de croissance pour l'induction de racines (fig. 7), les jeunes plantules sont ensuite mises en pot et placées pendant deux mois sous film plastique, pour maintenir une humidité environnante élevée. Aucune anomalie morphologique n'a été constatée et les plantes se sont révélées parfaitement fertiles.

## Discussion — Conclusion

Ces premières expériences ont donc permis de répondre à deux des questions posées.

1) On obtient une initiation de cals satisfaisante lorsque la concentration en 2-4-D se situe entre 5,5 et 7,5 mg/l et celle de thiamine entre 3 et 9 mg/l. Il devrait être possible d'optimiser encore le milieu, mais l'initiation de cals est jugée suffisante pour que cela n'apparaisse pas nécessaire.

2) La croissance des cals a été réalisée de manière à permettre une multiplication végétative satisfaisante, pour des concentrations en 2-4-D de 2,5 à 4,5 mg/l et des concentrations en thiamine de 7 à 9 mg/l. Mais l'objectif étant d'obtenir une masse cellulaire homogène, la plus importante possible, dans un minimum de temps, l'optimisation du milieu de croissance sera donc poursuivie.

Par contre il n'a été répondu que partiellement à la troisième question dans la mesure où la régénération de plantules apparaît un phénomène aléatoire, comparable à celui déjà rencontré chez le Maïs (Green, 1975; Rafaill, 1976). Les différences observées entre les deux repiquages, sur l'aptitude à régénérer en fonction du milieu sont très nettes; l'objet du deuxième repiquage étant de supprimer un effet éventuel du milieu d'initiation, la filiation des cals n'a pas été effectuée et il n'est pas possible de conclure sur la signification de ces différences. L'optimisation du milieu est donc ici une nécessité, mais une attention particulière sera portée sur une éventuelle corrélation entre l'aptitude à régénérer et d'une part la nature de l'explant mis en culture et d'autre part le milieu d'initiation du cal.

L'optimisation des milieux sera conduite en tenant compte des observations réalisées :

1) de fortes concentrations en 2-4-D et en thiamine permettent d'obtenir des cals homogènes et sans nécrose, mais la croissance est plus faible ou médiocre;

2) de faibles concentrations en 2-4-D et en thiamine semblent donner une croissance correcte mais entraînent l'apparition de nécroses sur les cals;

3) l'induction de néoformation semble exiger le passage par un certain état morphologique des cals, observation comparable à celle constatée sur le Maïs (Rafaill, 1976).

*Reçu pour publication en novembre 1976.*

## Summary

*Callus initiation and bud neoformation in* Echinochloa crus galli (L.) PB.

The cultivated explants were stem segments cut off on 4-5 leaves plants; they were left in the dark during three weeks to foster callus initiation.

The basic medium is made of the Murashige and Shook's solution for the major and minor elements, the vitamins (except thiamin) and the iron EDTA, and of saccharose (20 g/l), inositol

(100 mg/l) and glutamine (200 mg/l). Two groups of culture media were tested with 2-4 D and thiamin concentrations as variable parameters; the first one concerned the initiation with a concentration in 2-4 D ranging from 5 to 8.7 mg/l, the second one the growth of the initiated callus with a concentration in 2-4 D ranging from 1 to 5 mg/l. The concentration in thiamin varied between 1 and 13 mg/l for the two groups of media.

Callus initiation occurred ont the five media, but three of them gave a higher callus number for concentration in 2-4 D ranging from 5.5. to 7.5 mg/l and concentrations in thiamin ranging from 3 to 9 mg/l. Callus appeared as rather homogeneous whity masses which generally show no necrosis; root initiation was never observed.

A satisfactory cell multiplication was obtained on a growth medium containing 2.5 to 4.5 mg/l of 2-4 D and 7 to 9 mg/l of thiamin. Two types of callus were observed on these growth media: the ones developed normally and formed an homogeneous cell mass, but with a globular aspect, the others having a very clear tendency to the formation of sectorial necroses. The latter mostly began as small nodosities which appeared on the callus surface; the necrosis may spread very slowly over the whole callus. Among the callus presenting necroses, some had a peculiar evolution which lead to neoformation the latter developed from little chlorophyllian masses which appeared on callus surface. It seems therefore that the passage through this necrotic state is necessary to the occurrence of bud induction as the latter was never observed on callus showing no necrosis. The neoformation induction remains however a random phenomenon; one of the media which contained 2.5 mg/l of 2-4 D and 7 ml/l of thiamin seemed nevertheless to be the most favourable to initiation. The plants obtained, once put under normal horticultural conditions show no morphological anomaly and were perfectly fertile.

## Références bibliographiques


AHLOOWALIA B. S., 1975. Regeneration of Ryegrass plants in tissue culture. *Crop Sci.*, **15**, 449-452.

CLAPHAM D., 1973. Haploid Hordeum plants from anthers. *Z. Pflanzenzücht.*, **69**, 142-155.

GASQUEZ J., COMPOINT J.-P., 1976. Apport de l'électrophorèse en courant pulsé à la taxonomie d'*Echinochloa crus galli* (L.) PB. *Ann. Amélior. Plantes*, **26**, 345-355.

GREEN C. E., PHILLIPPS R. L., 1975. Plant regeneration from tissue callus from Maize. *Crop Sci.*, **15**, 417-421.

HEINZ D. G., MEE W. P., 1969. Plant differentiation from callus tissue of *Saccharum* species. *Crop Sci.*, **9**, 346-348.

MASTELLER U. J., HOLDEN D. J., 1970. The growth of and organ formation from callus tissue of Sorghum. *Plant. Physiol.*, **45**, 362-364.

MURASHIGE T., SKOOG T., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.*, **15**, 473-497.

RAFAILL W., 1976. Studies of callus tissus derived from the scutellum of Maize. *Maize Genet. Coop. News Letter*, **50**, 84-86.

SHIMADA T., SASAKUMA T., TRUNEWAKI K., 1969. *In vitro* culture of Wheat tissues I. Callus formation, organ redifferentiation and single cell culture. *Canad. J. Genet. Cytol.*, **11**, 294-304.

TAMURA S., 1968. Shoot formation in calli originated from Rice embryo. *Japan. Acad. Proc.*, **44**, 544-548.

VUILLAUME E., DESHAYES A., 1977. Initiation de cals *in vitro* à partir de fragments de mesocotyle et de coléoptile chez le Maïs. *Ann. Amélior. Plantes* **27**, (6) (sous presse).

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (4), 435-450

# Estimation des besoins en froid nécessaires à la levée de dormance des bourgeons du Cassis (*Ribes nigrum L.*) et du Groseillier à grappes (*Ribes* sp.)

B. LANTIN

avec la collaboration technique de J. M. BORE et M. CLERAC

*Station de Recherches d'Arboriculture fruitière,*
*Centre de Recherches d'Angers, I.N.R.A.,*
*Beaucouzé, 49000 Angers*

## Résumé

Les exigences en froid de 59 variétés de Cassis et de 28 variétés de Groseillier sont précisées et comparées aux sommes d'action froid calculées à partir des températures maximales et minimales journalières (BIDABE, 1965) relevées à la Station de Recherches d'Arboriculture fruitière d'Angers du 1er octobre au 1er avril.

Le mauvais comportement de certaines variétés perturbées par les récents hivers doux s'est encore aggravé en 1974 et 1975 : outre l'hétérogénéité croissante de la végétation, on a enregistré une diminution spectaculaire des rendements.

Une sélection variétale s'impose de façon à éviter dans de telles situations la plantation de matériel inadapté sur le plan climatique.

## Introduction

De nombreuses observations conduites en verger durant dix ans, confirmées par une série d'expérimentations en conditions contrôlées, ont mis en évidence l'importance de la satisfaction des exigences en froid pour assurer la levée de dormance des bourgeons sur la productivité des espèces du genre *Ribes* (LANTIN, 1973). Une étude complémentaire sur une collection importante de cultivars de Cassis et Groseillier a permis l'estimation de paramètres définissant pour une variété donnée, d'une part le degré d'homogénéité ou d'hétérogénéité d'une population de bourgeons, d'autre part les exigences en froid qu'elle manifeste. Nous n'aborderons pas le problème complémentaire des exigences thermiques du végétal après levée de la dormance. Il ne semble d'ailleurs pas avoir une incidence importante, comparé à celui retenu dans cette étude, sur le comportement du Cassis et du Groseillier.

## Matériel et méthodes

Le matériel qui a servi de support à cette étude est issu des collections variétales de Cassis et Groseillier à grappes entretenues à la Station de Recherches d'Arboriculture fruitière d'Angers.

Chaque fois que les sommes d'action froid enregistrées au niveau de la parcelle augmentent de 10 unités environ, 2 à 3 rameaux de chaque cultivar soit une cinquantaine de bourgeons environ sont prélevés et placés en vase à une température de 20 °C. Les fréquences et les dates de prélèvement varient chaque année en fonction des disponibilités en matériel végétal et des données climatiques. L'évolution des bourgeons dont la dormance est levée, fait l'objet d'observations répétées tous les deux jours durant quatre semaines. Toutefois dans le cadre particulier de cette étude, nous ne retenons comme indice de satisfaction des besoins en froid que le taux final de débourrement correspondant à la somme des observations partielles.

Les températures maximales ($tM$) et minimales ($tm$) journalières enregistrées au champ, à 40 cm du sol, sont transformées en « action froid » selon la loi d'action exponentielle des températures dont BIDABE a montré l'intérêt sur Pommier en 1963 et 1965 :

$$Af \text{ jour} = Q_{10}^{-\frac{tm}{10}} + Q_{10}^{-\frac{tM}{10}}$$

Quelques indications sur les correspondances en action froid des différentes températures pour des valeurs particulières de $Q_{10}$, sont données au tableau 1. Ces actions froid journalières sont sommées pour différentes valeurs de $Q_{10}$ (1,2 à 3,0) à partir du 1$^{er}$ octobre et jusqu'à la fin du débourrement observé en verger. La date initiale du 1$^{er}$ octobre est arbitraire si l'on considère l'aspect physiologique du problème. En fait, elle correspond au début de variations sensibles entre années sur le plan climatologique et plus spécialement en ce qui concerne le froid. Compte tenu d'expériences préliminaires, nous attendons pour débuter les prélèvements une somme d'action froid voisine de 100 unités ($Q_{10} = 2{,}0$) valeur au-dessous de laquelle aucun bourgeon des variétés concernées n'est capable d'entrer en activité.

Les courbes représentatives des taux de débourrement final ($y$) observés à chaque prélèvement en fonction des sommes d'action froid reçues sont toujours des sigmoïdes. En utilisant la transformation logarithmique $Z = \log\left(\frac{y}{a-y} \times 100\right)$, $Z$ devient une fonction linéaire de la somme d'action froid ($\sum Af$) ce qui permet le calcul de corrélations et de régressions entre ces deux termes (DECOURTYE et BRIAN, 1967); $a$ représente l'ordonnée de l'asymptote supérieure de la sigmoïde soit $n + 1$ si $n$ est le nombre maximal de bourgeons débourrés au cours de l'essai.

En admettant l'hypothèse de la loi d'action exponentielle des températures, l'estimation de la valeur $Q_{10}$ rendant le mieux compte de la réaction thermique du végétal peut s'effectuer en comparant pour une valeur $Z$ constante obtenue à différentes températures contrôlées les variances des sommes d'action froid correspondantes, calculées pour une gamme de valeurs aussi large que possible. La valeur $Q_{10}$ retenue sera celle qui induira la variance la plus faible. A défaut de pouvoir mener cette expérimentation rigoureuse, comptant sur des variations climatiques entre années suffisantes, nous estimons la valeur $Q_{10}$ la plus favorable

## TABLEAU 1

*Correspondances en action froid des différentes températures aux valeurs $Q_{10}$ retenues*

$$Af = Q_{10}^{-\frac{t}{10}}$$

| Températures | $A/Q_{10} = 1{,}4$ | $A/Q_{10} = 1{,}6$ | Températures | $A/Q_{10} = 1{,}4$ | $A/Q_{10} = 1{,}6$ |
|---|---|---|---|---|---|
| + 30 | 0,4 | 0,2 | + 7 | 0,8 | 0,7 |
| 29 | 0,4 | 0,3 | 6 | 0,8 | 0,8 |
| 28 | 0,4 | 0,3 | 5 | 0,8 | 0,8 |
| 27 | 0,4 | 0,3 | 4 | 0,9 | 0,8 |
| 26 | 0,4 | 0,3 | 3 | 0,9 | 0,9 |
| 25 | 0,4 | 0,3 | 2 | 0,9 | 0,9 |
| 24 | 0,4 | 0,3 | 1 | 1,0 | 1,0 |
| 23 | 0,5 | 0,3 | 0 | 1,0 | 1,0 |
| 22 | 0,5 | 0,4 | — 1 | 1,0 | 1,1 |
| 21 | 0,5 | 0,4 | — 2 | 1,1 | 1,1 |
| 20 | 0,5 | 0,4 | — 3 | 1,1 | 1,2 |
| 19 | 0,5 | 0,4 | — 4 | 1,2 | 1,2 |
| 18 | 0,5 | 0,4 | — 5 | 1,2 | 1,3 |
| 17 | 0,6 | 0,4 | — 6 | 1,2 | 1,3 |
| 16 | 0,6 | 0,5 | — 7 | 1,3 | 1,4 |
| 15 | 0,6 | 0,5 | — 8 | 1,3 | 1,5 |
| 14 | 0,6 | 0,5 | — 9 | 1,4 | 1,5 |
| 13 | 0,6 | 0,5 | — 10 | 1,4 | 1,6 |
| 12 | 0,7 | 0,6 | — 11 | 1,4 | 1,6 |
| 11 | 0,7 | 0,6 | — 12 | 1,5 | 1,7 |
| 10 | 0,7 | 0,6 | — 13 | 1,5 | 1,8 |
| 9 | 0,7 | 0,7 | — 14 | 1,6 | 1,9 |
| 8 | 0,8 | 0,7 | — 15 | 1,6 | 2,0 |

*Exemple de calcul :*
Action froid d'une journée ayant eu une température minimal de — 2 °C et une température maximale de + 12 °C
Af à $Q_{10} = 1{,}4$
→ 1,1 + 0,7 = 1,8
A*f* à $Q_{10} = 1{,}6$
→ 1,1 + 0,6 = 1,7

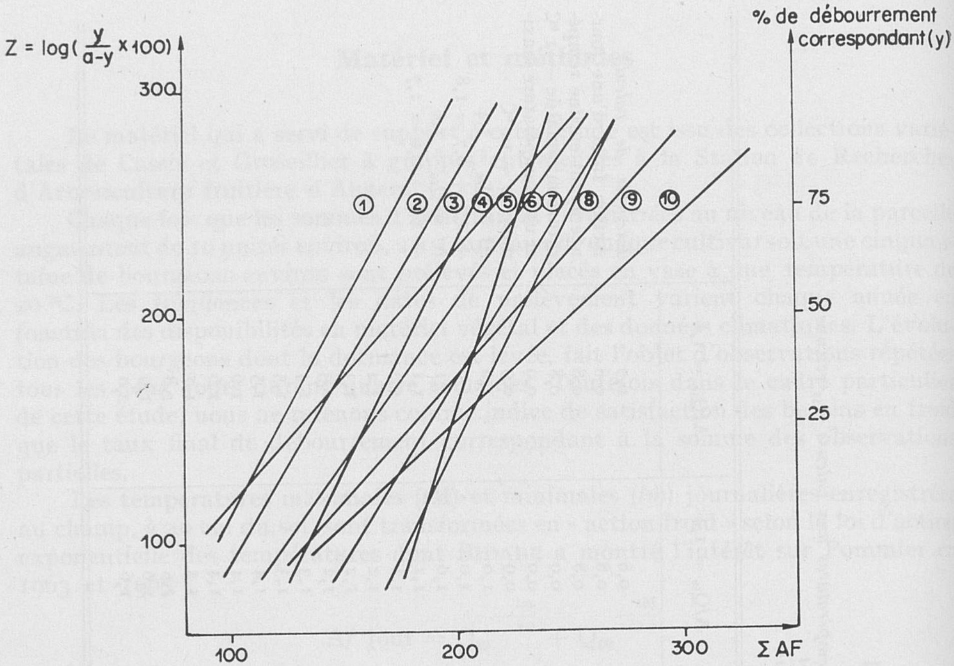



FIG. 1. — *Droites de régression représentatives du débourrement de variétés de Cassis en fonction du froid reçu.*

(1) : « Golubka »
(2) : « Cotswold Cross »
(3) : « Wellington XXX »
(4) : « Baldwin »
(5) : « Raven »
(6) : « Noir de Bourgogne »
(7) : « Silvergieter »
(8) : « Consort »
(9) : « Amos Black »
(10) : « Roodknop »

à partir des corrélations $Z/\sum Af$ établies sur l'ensemble des observations. Il est bien évident que la discrimination sera d'autant plus sensible que les conditions climatiques annuelles seront plus variées.

## Résultats

### A. — *Estimation de la valeur* $Q_{10}$

Au cours de cette étude, nous avons bénéficié, principalement de 1970 à 1975, de variations sensibles dans les conditions climatiques hivernales (fig. 2). Les températures exceptionnellement clémentes des hivers 1973-74 et 1974-75 (278 et 266 unités froid à $Q_{10} = 1{,}4$ comparées aux 304 unités sommées au 1-4-1971) ont permis à la fois d'accentuer les écarts enregistrés entre sommes d'action froid pour différentes valeurs $Q_{10}$ et de multiplier le nombre des prélèvements de rameaux: en effet, grâce à ces conditions particulières la pleine satisfaction des besoins en froid et par conséquent l'évolution de la végétation ont été retardés dans le temps.

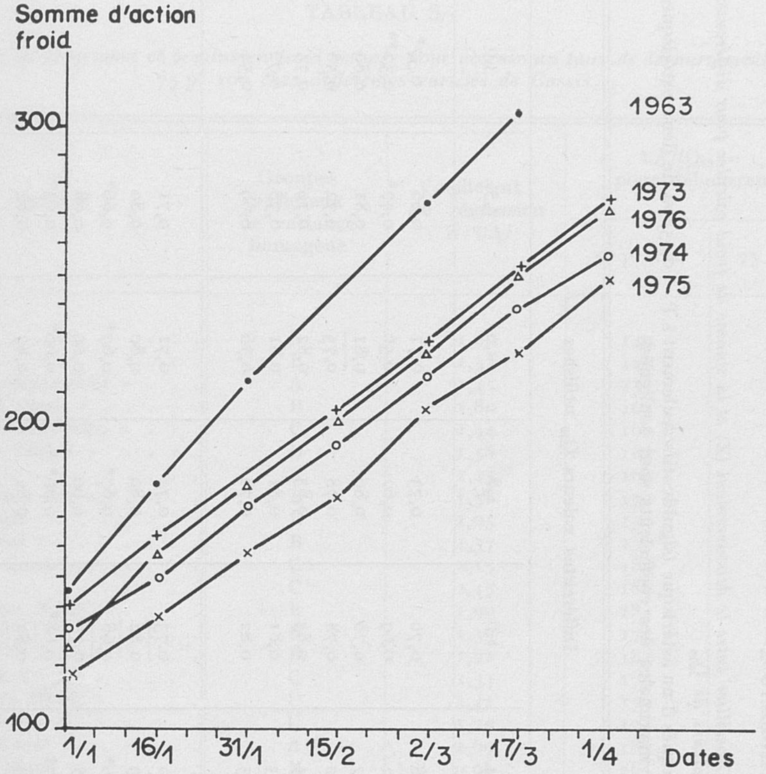



FIG. 2. — *Sommes d'action froid* ($Q_{10} = 1,6$) *cumulées pour différentes années à partir du 1er octobre, à Angers.*

Pour une gamme de valeurs $Q_{10}$ de 1,2 à 3,0 nous avons calculé les corrélations entre le débourrement final transformé (Z) observé à chaque prélèvement et la somme d'action froid subie antérieurement. Nous obtenons surtout pour les valeurs comprises entre 1,2 et 2,0 des coefficients très significatifs à P = 0,01 mais présentant toutefois une certaine variation autour d'une valeur optimale voisine de 0,80 (tabl. 2). Nous estimons que la valeur optimale de $Q_{10}$ pour une variété donnée est celle qui conduit au coefficient de corrélation le plus élevé donc le plus significatif. Nous constatons que les variétés de Groseillier présentent une corrélation plus étroite pour une valeur $Q_{10}$ de 1,6, valeur retenue pour l'ensemble de l'espèce tandis que les résultats sur Cassis sont plus divers. Les coefficients maximaux se situent généralement pour des $Q_{10}$ de 1,2 et 1,4 exception faite de quelques variétés dont « Black Reward » qui s'accommode d'un $Q_{10}$ de 2,5 et même 3,0. Pour des raisons de commodité dans les comparaisons et les classements nous adopterons pour l'ensemble des variétés de Cassis une valeur moyenne de 1,4.

### B. — *Estimation des exigences variétales en froid*

Pour les valeurs $Q_{10}$ précédemment définies et sur l'ensemble des données rassemblées, nous avons établi pour chaque variété la régression linéaire représentative du débourrement par rapport aux quantités de froid subies. Un test F positif

TABLEAU 2

*Coefficients de corrélation obtenus pour quelques variétés de Cassis et Groseillier entre le débourrement (Z) et la somme de froid calculée pour différentes valeurs de $Q_{10}$*

(Tous les coefficients sont significatifs à P = 0,01 exceptés ceux marqués d'un astérisque (significatifs seulement à P = 0,05) ou de deux astérisques (non significatifs). Les valeurs maximales des coefficients sont soulignés).

| Variétés | Nombre de couples Z / ΣA/ | Différentes valeurs $Q_{10}$ utilisées | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1,2 | 1,4 | 1,6 | 1,8 | 2,0 | 2,5 | 3,0 |
| « Akkerman's bes » . . . | 19 | 0,72 | 0,78 | 0,76 | 0,73 | 0,71 | 0,66 | 0,57* |
| « Baldwin » . . . . . . | 28 | 0,77 | 0,72 | 0,69 | 0,62 | 0,56 | 0,47* | 0,32** |
| « Black Reward » . . . | 19 | 0,74 | 0,77 | 0,78 | 0,80 | 0,81 | 0,81 | 0,80 |
| « Cotswold Cross » . . . | 40 | 0,80 | 0,80 | 0,78 | 0,78 | 0,75 | 0,72 | 0,58 |
| « Noir de Bourgogne » . | 28 | 0,84 | 0,84 | 0,83 | 0,83 | 0,82 | 0,79 | 0,75 |
| « Tsema » . . . . . . . | 26 | 0,82 | 0,83 | 0,81 | 0,81 | 0,81 | 0,78 | 0,72 |
| « Wellington XXX » . . | 40 | 0,84 | 0,83 | 0,82 | 0,78 | 0,76 | 0,69 | 0,54 |
| « Gloire des Sablons » . | 11 | 0,69 | 0,70 | 0,73 | 0,72 | 0,71 | 0,71 | — |
| « Groseille raisin » . . . | 12 | 0,78 | 0,79 | 0,82 | 0,80 | 0,80 | 0,80 | — |
| « Rondom » . . . . . . | 13 | 0,66* | 0,66* | 0,68 | 0,67* | 0,67* | 0,66* | — |
| « Stanza » . . . . . . | 13 | 0,67* | 0,68 | 0,70 | 0,69 | 0,69 | 0,68 | — |
| « Versaillaise rouge » . . | 11 | 0,66* | 0,67* | 0,68* | 0,66* | 0,66* | 0,63* | — |
| « Wilder » . . . . . . | 13 | 0,81 | 0,82 | 0,83 | 0,82 | 0,82 | 0,82 | — |

TABLEAU 3

*Coefficients de régression et besoins en froid estimés pour obtenir un taux de débourrement de 50 et 75 p. 100 chez différentes variétés de Cassis*

| Variétés | Groupes variétaux de variance homogène | Coefficient de régression $Z / \Sigma Af$ | $\Sigma Af(Q_{10} = 1,4)$ pour débourrement | |
|---|---|---|---|---|
| | | | 50 p. 100 | 75 p. 100 |
| Cassis | | | | |
| « Golubka » | B | 1,86 | 149 | 175 |
| « Delur » | B | 1,33 | 149 | 185 |
| « Daniel's September » | A | 1,45 | 157 | 190 |
| « Cotswold Cross » | B | 1,80 | 165 | 192 |
| « Chernaja Lisavenko » | C | 1,44 | 160 | 193 |
| « Laxton's Tinker » | B | 1,58 | 163 | 193 |
| « Yunnat » | A | 1,25 | 163 | 202 |
| « Akkerman's Bes » | B | 1,58 | 172 | 203 |
| « Blacksmith » | B | 1,05 | 159 | 205 |
| « White Bud » | B | 1,37 | 170 | 205 |
| « Malvern Cross » | C | 2,15 | 185 | 207 |
| « Slitsa » | C | 2,45 | 188 | 207 |
| « Wellington XXX » | B | 1,99 | 184 | 208 |
| « Brödtorp » | B | 1,33 | 173 | 209 |
| « Tsema » | B | 1,72 | 183 | 211 |
| « Westwick Choice » | C | 1,34 | 175 | 211 |
| « Seabrook's Black » | C | 1,42 | 179 | 213 |
| « Magnus » | C | 1,25 | 174 | 213 |
| « Mendip Cross » | A | 1,69 | 187 | 215 |
| « Ogden's Black » | B | 0,96 | 165 | 215 |
| « Baldwin » | B | 1,12 | 175 | 217 |
| « Wellington Precoce » | B | 1,77 | 190 | 217 |
| « Tinker » | B | 1,71 | 190 | 218 |
| « Tenah » | B | 1,65 | 189 | 218 |
| « Davison 8 » | B | 2,42 | 201 | 221 |
| « Lafouge » | A | 1,24 | 185 | 223 |
| « Ontario Climax » | C | 1,56 | 193 | 223 |
| « Holger Danske » | B | 1,20 | 184 | 224 |
| « Tor Cross » | C | 2,21 | 202 | 224 |
| « Mitchourin sélect. 86 » | C | 2,22 | 203 | 224 |
| « Champion » | B | 1,27 | 187 | 225 |
| « Victoria » | B | 1,52 | 194 | 226 |
| « Bang up » | B | 1,58 | 197 | 228 |
| « Raven » | B | 3,23 | 213 | 228 |
| « Merveille de la Gironde » | B | 1,47 | 196 | 229 |
| « Goliath » | B | 1,28 | 191 | 229 |
| « Noir de Bourgogne » | B | 1,43 | 196 | 230 |
| « Pamjat Mitchourina » | C | 1,57 | 201 | 231 |
| « Lee's Prolific » | A | 1,21 | 191 | 231 |
| « Marly » | A | 1,29 | 195 | 232 |
| « Rosenthal » | B | 1,55 | 205 | 236 |
| « M.59.3 » | A | 1,21 | 197 | 237 |
| « Géant de Boskoop » | B | 1,45 | 204 | 237 |
| « Vindrue » | A | 1,23 | 199 | 238 |
| « Coulter Mains » | B | 1,13 | 195 | 238 |
| « Royal de Naples » | A | 1,53 | 209 | 240 |
| « Lissawaja » | B | 1,57 | 211 | 241 |
| « Black Reward » | B | 1,32 | 210 | 246 |
| « Wellington X » | B | 1,21 | 208 | 247 |

TABLEAU 3 (*suite*)

| Variétés | Groupe variétaux de variance homogène | Coefficient de régression Z /ΣA*f* | ΣA*f*($Q_{10}$ = 1,4) pour débourrement 50 p. 100 | ΣA*f*($Q_{10}$ = 1,4) pour débourrement 75 p. 100 |
|---|---|---|---|---|
| « Silvergieter » . . . . . . . | C | 1,63 | 218 | 247 |
| « Rosenthal L.G. » . . . . . . | B | 1,62 | 221 | 251 |
| « Golden » . . . . . . . . . | B | 1,70 | 223 | 251 |
| « Consort » . . . . . . . . . | B | 1,95 | 229 | 253 |
| « Laxton's Giant » . . . . . . | A | 1,58 | 224 | 254 |
| « Mitchourin Sélect. 164 » . . | B | 1,40 | 220 | 255 |
| « Ruhm von Sablons » . . . | C | 1,41 | 223 | 257 |
| « Westwick Triumph » . . . | B | 1,32 | 224 | 261 |
| « Amos Black » . . . . . . . | C | 1,11 | 225 | 268 |
| « Roodknop » . . . . . . . . | A | 0,93 | 252 | 304 |
| p.p.d.s. à $p = 0{,}05$ Variétés A et B . . . . | | 0,16 | — | 21 |
| Variétés C . . . . . . . . | | 0,23 | — | 26 |

à P = 0,01 permet d'en définir la signification et d'en vérifier la linéarité pour tous les Cassis et la plupart des Groseilliers. Seules quelques variétés dont le nombre de données est généralement faible font exception (tabl. 4).

Pour chaque espèce, nous avons contrôlé l'homogénéité des variances résiduelles par un test de Bartlett : une certaine hétérogénéité étant apparue sur l'ensemble ($P < 0{,}01$ pour 59 et 24 degrés de liberté), les variétés ont été réparties en deux ou trois groupes à faible, moyenne ou forte variance que nous avons appelés respectivement A, B et C (tabl. 3 et 4). Dans chaque groupe, la probabilité d'homogénéité est supérieure à 0,50 et atteint même 0,90 pour C.

A l'intérieur de chacune de ces familles, les régressions exprimant le comportement variétal présentent des différences tant dans leur pente que dans leur position par rapport à l'axe des « *x* » représentant les sommes d'action froid.

Les pentes définies par les coefficients de régression peuvent être ordonnées dans l'ordre croissant de 0,93 à 3,23 pour les Cassis, de 0,84 à 2,59 pour les Groseilliers. Par comparaison des valeurs deux à deux à l'aide d'un test *t* on met aisément en évidence des différences significatives. Une p.p.d.s. à P = 0,05 est estimée : pour le Cassis elle est de 0,16 seulement pour les familles A et B, 0,23 pour C. Une précision moins grande est obtenue chez le Groseillier où nous avons 0,39 pour B et 0,74 pour C. Ce premier type de classement apparaît en relation avec le degré d'homogénéité de la population de bourgeons considérée. Plus la pente est forte, plus la population de bourgeons sur le rameau est homogène vis-à-vis des besoins en froid puisque l'ensemble évolue rapidement pour des écarts de froid relativement faibles. Les variétés de ce type présenteront généralement en verger un débourrement très régulier et une grande homogénéité de végétation. Dans le cas contraire où la pente est faible, chaque bourgeon manifeste des besoins en froid

TABLEAU 4

*Signification et homogénéité des régressions Z / ΣAF chez les variétés de Groseillier. Besoins en froid estimés à $Q_{10} = 1,6$ pour obtenir 50 et 75 p. 100 de débourrement*

| Variétés | Groupes variétaux de variance homogène | d.l. des régressions (*n* — 2) | Significa-tion(*) des régressions | Coefficient de régression Z / ΣA*f* | ΣA*f*($Q_{10}$ = 1,6) pour débourrement 50 p. 100 | ΣA*f*($Q_{10}$ = 1,6) pour débourrement 75 p. 100 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| GROSEILLIERS | | | | | | |
| « North Star » . . . . . . | — | 3 | N.S. | (2,78) | 170 | 187 |
| « Versaillaise Rouge 81 » . | C | 9 | + | 1,84 | 163 | 189 |
| « Knight » . . . . . . . . | B | 4 | ++ | 2,33 | 171 | 192 |
| « AR.7.16 ». . . . . . . . | B | 9 | ++ | 2,03 | 169 | 193 |
| « Versaillaise Rouge 20 ». . | — | 3 | N.S. | (2,85) | 178 | 195 |
| « Fertile de Palluau » . . . | C | 4 | + | 2,40 | 178 | 198 |
| « Queen Ocean » . . . . . | B | 8 | ++ | 2,55 | 190 | 209 |
| « Cerise Blanche » . . . . | B | 11 | ++ | 2,34 | 190 | 211 |
| « La Turinoise » . . . . . | C | 9 | + | 1,45 | 178 | 211 |
| « Wilder » . . . . . . . . | B | 11 | ++ | 1,97 | 197 | 221 |
| « Maarse's Prominent » . . | B | 4 | ++ | 1,11 | 186 | 230 |
| « AR.12.3 ». . . . . . . . | B | 10 | ++ | 2,58 | 217 | 235 |
| « Gloire des Sablons » . . | C | 9 | + | 2,59 | 218 | 237 |
| « Red Lake » . . . . . . . | B | 11 | ++ | 1,71 | 212 | 240 |
| « Laxton's Perfection » . . | B | 10 | ++ | 1,86 | 216 | 242 |
| « Groseille Raisin » . . . . | B | 10 | ++ | 2,49 | 237 | 256 |
| « Jonkheer van Tets » . . . | B | 9 | + | 1,28 | 220 | 257 |
| « Versailles Blanche » . . . | B | 10 | ++ | 1,66 | 230 | 259 |
| « Delfol » . . . . . . . . | B | 9 | ++ | 1,58 | 227 | 258 |
| « Riets Glory » . . . . . . | B | 11 | ++ | 1,63 | 235 | 264 |
| « Cocagne (MID 4) » . . . | B | 10 | ++ | 1,65 | 236 | 265 |
| « Rondom » . . . . . . . | B | 11 | ++ | 1,24 | 240 | 278 |
| « Cascade » . . . . . . . | B | 12 | ++ | 1,08 | 237 | 281 |
| « London Market » . . . . | B | 12 | ++ | 1,19 | 259 | 299 |
| « Stanza » . . . . . . . . | B | 11 | ++ | 0,84 | 293 | 350 |
| « Prince Albert » . . . . . | B | 7 | ++ | 1,08 | 329 | 373 |
| « Gondouin Rouge » . . . | — | 10 | N.S. | (0,44) | 323 | 432 |
| « Erstling aus Vierlanden » | — | 7 | N.S. | (0,51) | 365 | 459 |
| p.p.d.s. (P = 0,05) . . . | Variétés B | | | 0,39 | — | 30 |
| | Variétés C | | | 0,74 | — | 34 |

(*) Légende N.S. : non significatif.
+ : significatif à P = 0,05.
++ : significatif à P = 0,01.

particuliers suffisamment différents du reste de la population pour que la levée de dormance apparaisse très fractionnée et progressive. A titre d'exemple, considérons deux variétés à comportement différent, « Wellington XXX » ($b_W = 1,99$) et « Baldwin » ($b_B = 1,12$). On observe en conditions expérimentales une satisfac-

tion des besoins en froid relativement groupée chez « Wellington XXX » et une évolution rapide du taux de débourrement d'un prélèvement à l'autre. Chez « Baldwin », par contre, de petites quantités de froid, nettement insuffisantes pour permettre une levée de dormance satisfaisante sur l'ensemble des bourgeons, favorisent le débourrement d'un petit pourcentage de la population qui croît très lentement avec l'augmentation des sommes d'action froid. Sous nos climats, surtout lorsque les températures hivernales sont élevées, des variétés de ce type présentent des débourrements échelonnés voire souvent incomplets du fait de corrélations entre bourgeons qui conduisent à des compétitions trophiques ou des inhibitions. Parmi les variétés à comportements extrêmes sur ce plan citons « Raven » et « Groseille raisin », relativement homogènes par rapport à « Roodknop », « Erstling aus vierlanden » ou « Stanza » dont l'hétérogénéité est maximale chez nous.

Un second type de classification variétale fait état de façon plus spécifique des exigences en froid calculées à partir des équations précédentes. Deux niveaux sont étudiés.

Nous avons tout d'abord défini la somme d'action froid correspondant à une évolution de 50 p. 100 des bourgeons du rameau. Cette somme peut être assimilée à la moyenne arithmétique des besoins en froid manifestés par l'ensemble des bourgeons pris individuellement. Nous admettons, ce qui semble vraisemblable, que leur répartition vis-à-vis de leurs exigences en froid suit une loi normale.

Nous avons ensuite calculé la somme d'action froid nécessaire pour faire évoluer 75 p. 100 des bourgeons. Cette valeur, plus proche de la finalité souhaitée dans la pratique en vue d'une bonne adaptation du matériel végétal, a été de préférence retenue pour la classification définitive (tabl. 3 et 4). L'estimation de p.p.d.s. à P = 0,05 pour chaque famille A, B, C donne une possibilité de classification significative et permet le choix de variétés témoins parmi celles qui sont le plus cultivées. Ces dernières serviront d'éléments de comparaison pour les études à venir concernant les nouvelles obtentions. Dans un ordre croissant vis à vis de leurs besoins en froid, nous pouvons retenir les variétés de Cassis suivantes : « Cotswold cross », « Baldwin », « Royal de Naples », « Amos black » et « Roodknop ». De même pour les Groseilliers dans un ordre similaire, nous pouvons citer « Versaillaise rouge 81 », « Wilder », « Jonkheer van tets », « London market » et « Stanza ».

### C. — *Conséquences pratiques sur le comportement et la productivité.*

L'examen des besoins en froid n'aurait qu'un intérêt limité pour nous si ces derniers étaient le plus souvent satisfaits. Or, depuis 1963, nous avons bénéficié de températures hivernales extrêmement variées qui nous ont permis de mieux définir les limites de nos conditions climatiques et d'en apprécier les effets sur le végétal. Si l'on considère à Angers l'évolution des sommes d'action froid acquises au cours de différents hivers, l'année 1962-1963 apparaît comme particulièrement froide tandis que 1973-1974 et surtout 1974-1975 représentent des hivers particulièrement doux (fig. 2).

Les divers phénomènes observés lors de carences en froid et rapportés dans une publication précédente (LANTIN, 1973) se sont accrus ces dernières années. Ils concernent d'abord une grande hétérogénéité de débourrement et de floraison accompagnée d'une réduction sensible du pourcentage de bourgeons évolués qui conduit à un dégarnissement progressif de la plante. Ces symptômes sont illustrés par la figure 3 représentant au printemps un semis de Cassis particulièrement



FIG. 3. — *Semis de Cassis à débourrement hétérogène par suite d'une carence en froid hivernal. A droite témoin à comportement normal.*

TABLEAU 5

*Production de variétés de Groseillier ayant de faibles et de fortes exigences en froid durant deux périodes différentes en froid hivernal (kg par buisson cumulés sur 2 ans)*

| Variétés peu exigeantes en froid (< 250 unités) | | | Variétés (très) exigeantes en froid (> 250 unités) | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Variétés | Production après hivers normaux 1973 + 1976 | Production après hivers doux 1974 + 1975 | Variétés | Production après hivers normaux 1973 + 1976 | Production après hivers doux 1974 + 1975 |
| « Wilder » | 14,0 | 13,8 | « Erstling aus Vierlanden » | 3,9 | 2,4 |
| « Fertile de Palluau » | 13,4 | 13,0 | « Cascade » | 7,0 | 3,6 |
| « North Star » | 10,0 | 10,1 | « Gondouin Rouge » | 10,8 | 7,7 |
| « Knight » | 9,8 | 8,1 | « Prince Albert » | 15,0 | 6,7 |
| « Queen Ocean » | 7,0 | 12,9 | « London market (57) » | 10,3 | 6,0 |
| « Red Lake » | 8,7 | 9,3 | « London market (28) » | 7,1 | 4,0 |
| « Laxton's perfection » | 11,0 | 10,7 | « Jonkheer van Tets (40) | 10,2 | 8,1 |
| « Versaillaise Rouge » | 9,0 | 8,6 | « Jonkheer van Tets (41) | 11,1 | 7,0 |
| « Maarse's Prominent » | 7,9 | 8,9 | « Groseille Raisin » | 14,5 | 10,0 |
| « La Turinoise » | 8,0 | 8,0 | « Rondom (101) » | 13,8 | 8,7 |
| « Cerise Blanche » | 7,5 | 8,7 | « Rondom (102) » | 9,3 | 6,5 |
| « Gloire des Sablons » | 7,4 | 5,3 | « Riets Glory » | 2,3 | 0,7 |
| TOTAL | 113,7 | 117,4 | TOTAL | 115,3 | 71,4 |
| Moyenne/Variété | 9,5 | 9,8 | Moyenne/Variété | 9,6 | 6,0 |

exigeant en froid dont le comportement est très perturbé par rapport au témoin remarquablement homogène.

Les accidents de plus en plus fréquents en 1974 et 1975 ont bien entendu des conséquences fâcheuses sur la productivité de certaines variétés de Cassis et surtout de Groseillier dont les besoins en froid sont très importants. Au niveau global des collections variétales rassemblant des types de toute origine, alors qu'aucun phénomène d'alternance ne peut être mis en cause sur ces espèces à renouvellement permanent en bois, nous enregistrons de 1971 à 1975 une dégradation constante du rendement. Pour l'ensemble des Groseilliers, ce dernier passe de 604 à 396 kg alors que les quantités de froid évaluées du 1^er^ octobre au 1^er^ mars ou 1^er^ avril diminuent progressivement de 241 ou 292 à 207 ou 251 unités ($Q_{10} = 1,6$). Nous avons retenu ces dates qui correspondent en fait à l'époque normale de débourrement car elles nous permettent par comparaison des sommes d'action froid calculées avec les besoins en froid estimés des variétés, un premier classement sélectif en rapport direct avec les possibilités locales de productivité. Pour démontrer ce fait, il suffit de comparer les rendements de deux groupes variétaux de Groseillier dans une plantation adulte âgée de 7 ans durant deux périodes différentes quant au froid hivernal (1973 et 1976 d'une part, 1974 et 1975 d'autre part). Pour constituer ces deux groupes, nous nous sommes fixés comme limite des besoins en froid 250 unités ($Q_{10} = 1,6$), représentant le maximum acquis au 1^er^ avril 1975. Incontestablement les variétés dont les exigences en froid sont supérieures à cette limite présentent une diminution de rendement importante (— 38 % en moyenne) alors que les variétés moins exigantes ont une production constante (tabl. 5). Des différences semblables sont plus difficiles à chiffrer sur Cassis du fait que peu de variétés ont des besoins en froid supérieurs à la limite retenue précédemment soit 266 unités ($Q10 = 1,4$) et que les écarts de froid entre les périodes proposées sont relativement modestes. Toutefois, si l'on considère deux souches de la variété « Amos black », leur production cumulée en 1973 et 1976 est respectivement de 6,1 et 5,1 kg et seulement 2,3 et 1,9 kg en 1974 et 1975.

Cette baisse de productivité n'est qu'une conséquence directe du comportement général, hétérogénéité et diminution de vigueur. Elle est d'autant plus accentuée que la population de bourgeons en cause est plus hétérogène. Par ailleurs, il ne se produit pas seulement une cassure brutale au niveau d'une limite empirique, comme pourraient le laisser supposer les résultats du tableau 5, mais une dégradation progressive dont les effets peuvent partiellement se cumuler jusqu'à rendre rédhibitoire toute implantation locale de certaines variétés.

## Discussion

Compte tenu des résultats présentés ci-dessus, nous sommes en mesure d'apprécier le degré d'adaptation, dans un milieu déterminé, de chaque variété étudiée. On peut dire à coup sûr qu'une variété, ayant des besoins en froid inférieurs à la limite minimale calculée au 1^er^ mars de l'année reconnue la moins froide sur une période suffisamment longue, ne posera aucun problème si toutes les conditions favorables d'implantation sont remplies par ailleurs. C'est le cas à Angers de variétés de Cassis telles que « Cotswold cross » ou « Tsema » dont les exigences en froid pour obtenir 75 p. 100 de débourrement sont inférieures à 220 unités ($Q_{10} = 1,4$). Il en est de même pour des variétés de Groseillier telles « Versaillaise rouge » ou « Fertile de Palluau » qui requièrent moins de 210 unités ($Q_{10} = 1,6$). Lors d'essais de production sur plusieurs années consécutives, ces mêmes variétés

arrivent régulièrement en tête du classement manifestant ainsi leur suprématie due à une bonne adaptation au milieu.

Par contre l'expérience montre que les variétés, dont les exigences sont supérieures à la somme de froid acquise le 1$^{er}$ avril de cette même année de référence (1975 dans notre exemple), sont sujettes à de fréquents accidents et ne peuvent être conseillées sans restriction compte tenu de leur rentabilité aléatoire. Il s'agit en particulier pour l'Ouest de la France des variétés de Groseillier figurant au tableau 5 avec des besoins en froid supérieurs à 250 unités. Cette information est d'autant plus importante pour notre région de production que figurent dans ce groupe de nombreuses variétés commerciales dont « Groseille raisin », « Jonkheer van tets », « Riets Glory », « Mid 4 », « Rondom », « London market » et « Stanza » sélectionnées pour leur bon comportement sous des climats plus rudes.

Reste encore un bon nombre de variétés intermédiaires pour lesquelles les risques sont plus limités mais d'autant plus prononcés que leurs besoins en froid sont élevés ainsi que leur hétérogénéité exprimée par des coefficients de régression de plus en plus faibles. En Cassis, par exemple, les risques encourus sont minimes pour « Davison 8 » (2,42-221) ou « Tenah » (1, 65-218) mais ils vont croissants avec « Tor Cross » (2, 21-224), « Noir de Bourgogne » (1, 43-230), « M-59-3 » (1, 21-237) et « Black Reward » (1, 32-246). Pour « Consort » variété relativement homogène (1,95) mais exigeante en froid (253) la mauvaise adaptation chronique se traduit en plus d'un niveau actuel de production très moyen, par des écarts annuels très importants dans l'époque relative de débourrement : elle se situe deux jours après « Cotswold cross » en 1963, 14 et 16 jours en 1972 et 1976, enfin 37 jours en 1975. Ces différences encore très sensibles pour les floraisons sont incompatibles avec la nécessité souvent rigoureuse pour les variétés de Cassis, en plantations de rapport, d'une pollinisation croisée.

## Conclusion

L'adaptation du végétal au milieu étant un facteur primordial de réussite, il conviendra à l'avenir d'étudier en priorité pour toute nouvelle variété ou hybride proposé, le niveau de ses besoins en froid. Cette détermination permettra, conjointement aux essais en place, de définir rapidement les zones de culture favorables et d'en préciser les limites. Il s'agit là d'un critère de sélection particulier qui prend une importance certaine en France à la suite du développement de plantations nouvelles hors des régions traditionnelles et à la tendance de plus en plus marquée d'une vocation fruitière des régions méridionales.

Une partie des producteurs de Cassis et Groseilles est déjà sensibilisée à ce problème sans toutefois avoir pleinement conscience de son importance. D'aucuns extrapolent à leur propre situation les résultats d'essais accompagnant la diffusion de nouvelles variétés d'origine étrangère courant ainsi le rique de sérieux déboires. En effet, ces essais réalisés en Grande Bretagne, Allemagne, Hollande, Canada, Pologne ou dans d'autres pays à climat généralement froid l'hiver et souvent continental, ne tiennent pas compte des conditions de levée de dormance qui n'interviennent pas là-bas comme facteur limitant. Pour ces mêmes raisons et pour le Groseillier principalement, l'utilisation fréquente par les sélectionneurs étrangers de géniteurs appartenant aux espèces *Ribes rubrum* et *Ribes petraeum* conduit à l'obtention de variétés très mal adaptées à nos conditions locales. Ces espèces en effet présentent un grand intérêt pour l'amélioration de la rusticité,

de la productivité et des qualités physiques du fruit mais manifestent des besoins en froid très importants évaluées à deux et même trois fois les besoins de *Ribes sativum*.

Cette situation et le fait que la Station de Recherches d'Arboriculture fruitière d'Angers soit climatiquement bien placée pour mener une sélection efficace sur ce caractère, justifient le programme d'hybridation entrepris actuellement pour obtenir et proposer un matériel végétal mieux adapté aux conditions climatiques tempérées et océaniques de l'Ouest de la France.

*Reçu pour publication en décembre 1976.*

## Summary


### Ribes *cold requirements for bud-bursting*

The chilling requirements of 59 blackcurrant and 28 redcurrant cultivars were precised and compared with the sums of cold action evaluated from the daily maximum and minimum temperatures recorded during a period going from 1st october to 1st april:

$$\text{daily cold action} = Q_{10}^{-\frac{tm}{10}} + Q_{10}^{-\frac{tM}{10}} \text{ (BIDABE, 1963-1965)}$$

Twigs have been taken at regular intervals, each time that in outer conditions, the sums of cold action varied from approximatively ten units.

The bud-burst percentages of these twigs at a temperature of 20 °C were then recorded.

Significant positive correlations have been shown to exist between the bud-burst rate observed and the sum of cold evaluated at each sampling date.

The corresponding regression straight lines have been calculated for the cultivars involved allowing then to be classified according to:

1) The sum of cold required to obtain a bud-burst value of 50 p. 100. This sum may be assimilate to the arithmetic mean of the cold requirements.

2) The sum of cold required to obtain a bud-burst value of 75 p. 100, which is the minimum one required for a good adaptation of the plant material in practical conditions.

3) The value of the regression coefficient, which gives an account of the rapidity of response to cold action of the buds' population observed and consequently of its homogeneousity or its heterogeneousity with respect to this characteristic.

The practical consequences of a lack of winter cold for highly-cold-requiring cultivars is a great heterogeneousity of bursting and flowering, accompained with a perceptible reduction of the number of evaluated buds which finally results in a progressive loss of plants' buds.

More or less important reduction of vigour was also observed, coupled with yield reduction.

These results make capable to appreciate the degree of adaptation of each cultivar to a determined environment.

It has been shown, at Angers, that some cultivars requiring less than 230-250 units of cold (for a bud-burst value of 75 p. 100) don't require too much cultivation work and are always the more productive ones. On the other hand, other cultivars requiring more than 250 units should not be recommended without restriction because of their risky rentability.

This information is more especially important for our production area as commercial cultivars selected for their good performances under harder climatic conditions belong to the latter group.

The Station de Recherches d'Arboriculture fruitière at Angers is settled in a good climatic area to make efficient the selection of this adaptation characteristic that the level of winter cold requirements is.

That is why the endeavour of such a breeding program on *Ribes* is justified, in order to supply better-adapted material to french climatic conditions.


## Références bibliographiques


BIDABE B., 1963. Contrôle de l'époque de floraison du Pommier par une nouvelle conception de l'action des températures. *C. R. Séances Acad. Agric. France*, **49**, 934-945.

BIDABE B., 1965. L'action des températures sur l'évolution des bourgeons de l'entrée en dormance à la floraison. **96**e *Congrès pomologique*, Paris 14-17 oct. 1965, 51-68.

BIDABE B., 1967. Action de la température sur l'évolution des bourgeons de Pommier et comparaison de méthodes de contrôle de l'époque de floraison. *Ann. Physiol. vég.*, **9** (1), 65-86.

DECOURTYE L., LANTIN B., VILCOT P., 1968. *Stades repères du Cassissier.* Plaquette éditée par la P.V. d'Angers.

DECOURTYE L., BRIAN C., 1967. Détermination des besoins en froid des Pomacées. Interprétation des courbes de germination. *Ann. Amélior. Plantes*, **17** (4), 375-391.

LANTIN B., 1973. Les exigences en froid des bourgeons du Cassis (*Ribes nigrum L.*) et de quelques Groseilliers (*Ribes sp.*). *Ann. Amélior. Plantes*, **23** (1), 27-44.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (4), 451-463.

# L'amélioration de la Tulipe pour l'aptitude au forçage. Recherche de critères de sélection

M. LE NARD

*Station d'Amélioration de la Pomme de terre et des Plantes à bulbes, I.N.R.A., 29208 Landerneau*

## Résumé

Le délai d'environ 5 ans qui sépare la graine de la première floraison d'un bulbe issu de semis et un faible coefficient de multiplication sont deux obstacles à l'amélioration rapide de la Tulipe.

Un cultivar possédant une bonne aptitude au forçage précoce fleurit tôt en serre et fournit des plantes dont la hampe florale est suffisamment longue. L'étude du comportement au champ et en serre d'un grand nombre de cultivars a permis de mettre en évidence deux corrélations : l'une entre l'ordre de floraison au champ et l'ordre de floraison en serre, et l'autre entre le classement des cultivars selon la longueur de leur hampe florale au champ et leur classement en serre. L'existence de ces corrélations doit permettre de faire une sélection pour l'aptitude au forçage dès la première floraison des hybrides en plein air.

L'aptitude au forçage précoce d'un cultivar peut être précisée en comparant son comportement à celui d'un cultivar témoin. Au cours de la préparation thermique pour le forçage, le contrôle de la différenciation florale n'est faite que chez le cultivar témoin. Cette méthode évite la destruction de gros bulbes chez le clone à juger et permet de faire une sélection alors que le clone ne comprend encore que quelques gros bulbes.

Une sélection pour la précocité chez des bulbes non encore florifères, basée sur la précocité de maturité des plantes, paraît délicate quand on travaille en conditions naturelles.

## I. — Introduction

Après son introduction en Europe occidentale au cours de la deuxième moitié du seizième siècle, la Tulipe a été longtemps considérée comme une plante essentiellement destinée aux amateurs. Depuis le début du vingtième siècle, elle est aussi très utilisée par les horticulteurs pour la production de fleurs coupées et plus spécialement pour une production hivernale sous abri (forçage).

Chez une plante florale destinée aux amateurs, l'originalité peut être un caractère très recherché. Par contre, à la suite de l'évolution des méthodes de production, les horticulteurs exigent que cette plante fournisse, en toute sécurité, dans le délai le plus court possible et généralement pour une date donnée, une fleur de qualité. Les caractéristiques physiologiques sont ainsi devenues des critères

de sélection très importants. Chez la Tulipe, le principal objectif actuel d'amélioration est l'obtention de cultivars possédant une bonne aptitude au forçage précoce, c'est-à-dire aptes à fleurir en serre avant Noël.

Pour ce forçage, seuls les plus gros bulbes (circonférence supérieure à 12 cm) sont utilisables. Après leur récolte, ils reçoivent une préparation thermique comprenant un passage à température moyenne à élevée puis un traitement à température basse avant la plantation sous abri. La nécessité d'un tel traitement thermique a été mise en évidence par les travaux de BLAAUW et *al.* (HARTSEMA, 1961). Dans la pratique, le niveau des températures utilisées et, ou, leurs durées d'application peuvent varier selon le cultivar et la précocité de floraison désirée (LE NARD, 1975).

Le passage des bulbes à température moyenne à élevée a pour but de permettre la différenciation rapide du bourgeon floral. La présence d'un bourgeon floral complètement différencié est un préalable à l'application du traitement à température basse nécessaire à la stimulation de la croissance ultérieure des plantes. Après la plantation en serre, la précocité de floraison dépend de la vitesse de croissance du cultivar. Un cultivar possédant une bonne aptitude au forçage précoce sera donc celui dont la préparation thermique et la végétation en serre seront aussi courtes que possible.

Mais un tel cultivar devra produire des plantes répondant à certains critères de qualité. Pour le marché français, et en dehors de toute considération concernant l'esthétique de la fleur, ces critères de qualité peuvent se résumer ainsi: au moment de la récolte, lorsque la fleur commence à se colorer, la hampe florale doit être rigide et de longueur suffisante (45 cm minimum si possible), le bouton floral, de taille correcte, doit être visible au-dessus de la pointe des feuilles quand celles-ci sont redressées le long de la hampe. Actuellement, peu de cultivars allient ces critères de qualité à une bonne précocité de floraison.

Il est évident que tout nouveau cultivar de Tulipe, en plus d'une bonne aptitude au forçage précoce, devra posséder des qualités agronomiques (multiplication, grossissement, etc...), une bonne esthétique et une bonne tenue en fleur coupée.

L'obtention rapide de nouveaux cultivars satisfaisant aux critères énoncés ici et, en particulier, le tri accéléré de ceux qui possèdent une bonne aptitude au forçage précoce se heurte à plusieurs obstacles dont quelques-uns proviennent des particularités des plantes issues de semis et du coefficient de multiplication de la Tulipe. Après avoir brièvement résumé ces particularités, nous rapporterons dans une deuxième partie quelques observations d'ordre méthodologique susceptibles d'accroître l'efficacité du travail de sélection.

## II. — Problèmes particuliers à l'amélioration de la Tulipe

### A. — *La croissance des plantes issues de semis*

Pour pouvoir germer, les graines de Tulipe, normalement récoltées à la fin du printemps, doivent être semées à température basse, les températures les plus favorables ayant été récemment précisées par FORTANIER et VAN BRENK (1975). La graine semée en automne donne naissance, à la fin de l'hiver, à une plante composée d'une pousse aérienne cylindrique (1 à 1,5 mm de diamètre, 8 à 12 cm de long) et d'une racine, puis d'un stolon à l'extrémité duquel se formera un petit

bulbe de quelques millimètres de diamètre (fig. 1). Ce bulbe se trouve généralement 6 à 8 cm en-dessous de la surface du sol, même si le semis est superficiel.

Les plantes issues de graines mûrissent à la fin du printemps où s'effectue la récolte des petits bulbes. Ces petits bulbes, en repos pendant l'été, seront plantés à l'automne pour un nouveau cycle de grossissement. Les bulbes de Tulipe étant

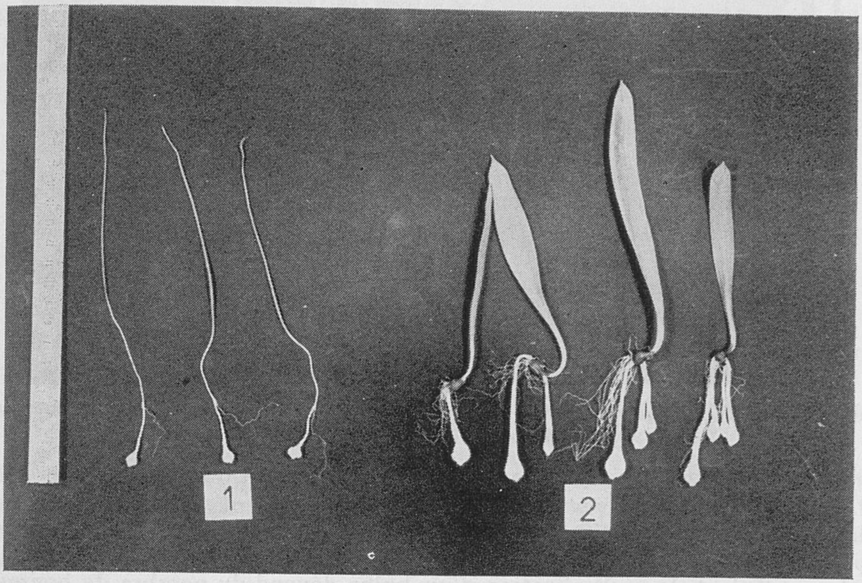



FIG. 1. — *Semis de Tulipe : plantes de première année* (1) *issues de graines, et plantes de deuxième année* (2) *issues de petits bulbes.*

à renouvellement annuel, les bulbes plantés à l'automne disparaissent tous les ans et l'on récolte à la fin du printemps suivant des bulbes-fils d'un poids supérieur à celui du bulbe-mère. Ces bulbes-fils ne peuvent différencier une fleur que s'ils ont atteint un poids minimum. Dans le cas des semis, un bulbe florifère n'est obtenu qu'après plusieurs cycles de grossissement. En conditions naturelles, si le grossissement est correct, la majeure partie des bulbes issus de semis sont aptes à différencier une fleur au cours de l'été qui suit le quatrième cycle de grossissement. Cette fleur s'épanouira au cours du cycle végétatif suivant, au printemps, c'est-à-dire au cours de la cinquième année à partir du semis (cf. fig. 2). En conditions contrôlées, il est possible de réduire la durée du délai graine-fleur en accélérant les cycles végétatifs des plantes (FORTANIER, 1971).

Tant que le bulbe n'est pas florifère, il ne différencie qu'une seule feuille et produit des stolons (fig. 2). La tendance à la production de stolons s'atténue dès la quatrième année et ne se manifeste pratiquement plus chez les bulbes florifères. Les petits bulbes produisent généralement 1 à 2 stolons, mais chez certaines plantes il a été possible d'en observer jusqu'à 4 (cf. fig. 1 : plantes de deuxième année). Du fait de la petite taille des bulbes au cours des premiers cycles de végétation, et du fait aussi de la présence de stolons, la récolte des semis de Tulipe est une opération très laborieuse.

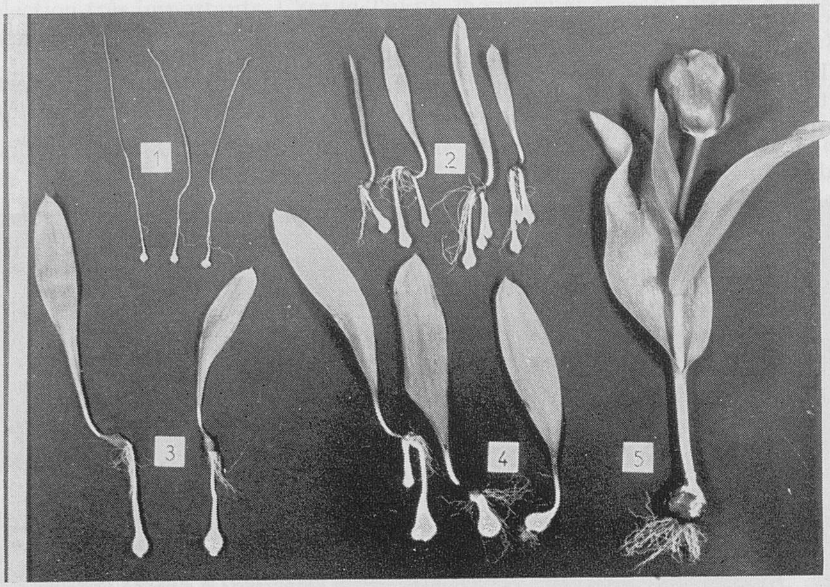



FIG. 2. — *Différents types de plantes obtenus au cours des cycles successifs de grossissement, du semis* (1) *à la floraison* (5).

B. — *Multiplication de la Tulipe et jugement de l'aptitude au forçage précoce.*

Le coefficient de multiplication d'un bulbe dépend du nombre de bourgeons végétatifs qu'il possède. Ces bourgeons végétatifs se trouvent à la base des écailles du bulbe à raison, généralement, d'un bourgeon par écaille. La potentialité de multiplication d'un bulbe dépend donc de son nombre d'écailles. Les plus gros bulbes possèdent généralement 5 écailles charnues au maximum plus une tunique (écaille membraneuse), c'est-à-dire 6 bourgeons végétatifs. Mais comme d'une part tous ces bourgeons ne grossissent pas toujours et comme d'autre part un clone est constitué de bulbes de différentes tailles, le coefficient de multiplication d'un cultivar se situe en fait aux environs de 2 ou 3. Ce faible coefficient de multiplication constitue un obstacle majeur au jugement rapide d'un hybride et à sa diffusion.

Généralement tout nouveau cultivar de Tulipe est d'abord sélectionné pour son comportement en plein air (précocité de floraison, grossissement du bulbe, etc...) et son esthétique. Son aptitude au forçage précoce ne peut être jugée que plus tard. La première étape de la détermination de cette aptitude est le contrôle de la précocité de différenciation du bourgeon floral. Cette opération qui nécessite des dissections, entraîne la destruction d'un certain nombre de bulbes. De ce fait, la détermination de l'aptitude au forçage précoce d'un nouveau clone ne peut commencer qu'à partir du moment où il comprend un nombre suffisant de gros bulbes (12 à 15 minimum). L'obtention de ces gros bulbes exige au moins 3 à 5 cycles de multiplication après la première floraison d'un hybride, c'est-à-dire que la sélection pour l'aptitude au forçage précoce ne peut commencer, au plus tôt, que 9 à 10 ans après le semis.

Pour essayer de réduire ce long délai, les chercheurs néerlandais (VAN EIJK, 1971; VAN EIJK et TOXOPEUS, 1968; VAN EIJK et LEEGWATER, 1975) ont tenté de déter-

miner des critères de sélection applicables dès les premiers cycles de grossissement des bulbes après le semis, c'est-à-dire alors qu'ils ne sont pas encore florifères. Ces travaux ont mis en évidence la possibilité d'une sélection très précoce pour le caractère production de bulbes, mais n'ont pas abouti dans le cas de l'aptitude au forçage.

Le fait de pouvoir pratiquer une sélection pour l'aptitude au forçage chez des clones comprenant seulement un ou quelques bulbes florifères constituerait un progrès important. Ceci implique qu'il ne soit pas nécessaire de détruire ces bulbes pour contrôler la différenciation florale et que l'on dispose de critères permettant d'apprécier très tôt l'aptitude au forçage d'un hybride. La recherche de tels critères était l'objectif du travail dont les résultats vont être exposés.

## III. — Recherche de critères de sélection pour l'aptitude au forçage précoce

### A. — *Matériel et méthodes*

Pour essayer de trouver des critères de sélection, le comportement d'un grand nombre de cultivars a été étudié au champ et en serre.

La pratique du forçage a mis en évidence des différences de précocité de floraison entre les cultivars. Cette précocité dépend de trois facteurs :

— la vitesse de la différenciation florale : une différenciation florale plus précoce permet un passage plus précoce à température basse et par suite une plantation plus précoce en serre. Par exemple, la différenciation florale du cultivar « Emmy Peeck » est généralement plus précoce que celle de « Paul Richter » (en 1975, l'écart était de 5 jours);

— la durée du traitement à température basse qu'il faut appliquer aux bulbes pour obtenir des plantes de qualité dans le délai le plus court possible. Par exemple, le cultivar « Apeldoorn » exige un traitement à température basse plus long que les cultivars « Emmy Peeck » ou « Paul Richter » et de ce fait est planté plus tard;

— la vitesse de croissance en serre à l'issue de la préparation thermique.

Négligeant, dans un premier temps, la variabilité susceptible d'exister vis-à-vis des deux premiers facteurs de précocité de floraison, on a étudié les conséquences d'une préparation thermique uniforme appliquée à une série de cultivars, le contrôle de la différenciation florale n'étant fait que chez un cultivar témoin, « Paul Richter », dont l'aptitude au forçage précoce est correcte. La préparation retenue, normalement utilisée chez le cultivar « Paul Richter » pour un forçage précoce, a été la suivante :

— dès la récolte, les bulbes sont placés à 34 °C pendant une semaine;

— ils sont ensuite mis à 20 °C pour permettre la différenciation florale; quand elle est terminée, les bulbes sont encore maintenus pendant 2 semaines à 20 °C;

— ils sont enfin placés à 5 °C pendant 9 semaines.

A l'issue de cette préparation thermique, les bulbes ont été plantés en serre chauffée (13°-17 °C) et en serre froide (5 °C minimum).

Les mêmes cultivars que ceux plantés en serre, ont été cultivés en plein air après une conservation normale des bulbes (température voisine de 20 °C), et l'on

a essayé de voir s'il était possible de relier leurs comportements dans les différents milieux.

En plein air comme en serre, les observations ont porté sur la précocité de floraison et la longueur de la hampe florale au moment de la floraison. Ces deux caractères, faciles à noter, définissent bien l'aptitude au forçage.

Des observations faites au champ ont conduit à penser qu'il serait peut-être possible de pratiquer une sélection pour la précocité dès les premiers cycles de grossissement des bulbes, alors qu'ils sont encore de petite taille et ne peuvent donc fleurir. Une tentative dans ce sens a été réalisée. Les résultats obtenus et les remarques auxquelles ils conduisent seront exposés.

## B. — *Résultats*

### 1. *Précocité de floraison au champ et précocité de floraison en serre.*

Il faut tout d'abord signaler que du fait de la sensibilité de la Tulipe aux conditions de milieu, il est nécessaire d'utiliser des bulbes produits au même endroit puis conservés dans les mêmes conditions si l'on veut comparer valablement les cultivars pour leur précocité de floraison.

TABLEAU 1

*Variations annuelles de la date de floraison et de la hauteur de quelques cultivars de Tulipe.*
La hauteur donnée est la distance qui sépare le niveau du sol de la base de la fleur au moment où celle-ci est colorée

| Cultivar | Date de floraison | | | Hauteur (cm) à la floraison | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1973 | 1974 | 1975 | 1973 | 1974 | 1975 |
| « Abodement » . . . . | 13 mars | 20 mars | 12 février | 3 | 4 | 7 |
| « Levant » . . . . . | 24 mars | 2 avril | 5 mars | 20 | 18 | 20 |
| « Emmy Peeck » . . . | 29 mars | 31 mars | 5 mars | 26 | 27 | 31 |
| « Most Miles » . . . . | 3 avril | 2 avril | 8 mars | 35 | 35 | 37 |
| « Paul Richter » . . . | 14 avril | 5 avril | 15 mars | 30 | 29 | 30 |
| « William Copland » . | 19 avril | 19 avril | 13 avril | 29 | 33 | 33 |
| « Apeldoorn » . . . . . | 24 avril | 17 avril | 16 avril | 36 | 40 | 40 |
| « William Pitt » . . . | 2 mai | 26 avril | 24 avril | 38 | 40 | 41 |
| « Halcro » . . . . . . | 8 mai | 3 mai | 28 avril | 55 | 55 | 55 |
| « Pss Margaret Rose » | 15 mai | 13 mai | 7 mai | 38 | 38 | 38 |

En plein air, la date de floraison d'un cultivar peut varier assez sensiblement d'une année à l'autre (cf. tabl. 1). Les variations, essentiellement imputables aux conditions de conservation des bulbes et aux conditions de milieu après la plantation, sont surtout fortes chez les cultivars qui fleurissent généralement avant la mi-avril sous nos conditions climatiques (Ouest de la France, zone proche du littoral). Malgré ces variations annuelles, il est possible de distinguer différents groupes de précocité de floraison, l'ordre de floraison des cultivars restant généra-

lement inchangé d'une année à l'autre. Les comportements de quelques cultivars, portés dans le tableau 1, illustrent l'échelonnement de la floraison sous nos conditions.

En serre, à la suite d'une préparation thermique uniforme, les cultivars ont manifesté des différences de précocité de floraison (tabl. 2). Les cultivars connus pour leur précocité (ex. « Emmy Peeck ») ont encore fleuri avant « Paul Richter ». Ce résultat indique que la méthode employée permet aux caractéristiques des divers cultivars de s'extérioriser. Il paraît donc possible d'apprécier l'aptitude au forçage précoce d'un hybride par rapport à un témoin au comportement bien connu. Le contrôle de la différenciation florale ne se faisant que chez ce témoin, on évite la destruction de gros bulbes chez l'hybride qui peut être alors jugé plus tôt (réduction du nombre de cycles de multiplication).

TABLEAU 2

*Précocité de floraison au champ et en serre de 12 cultivars de Tulipe. Année 1974*

Les bulbes forcés en serre ont subi la préparation thermique suivante : 1 semaine à 34 °C après la récolte (du 4 au 6 juin), 20 °C jusqu'au 9 août, puis 9 semaines à 5 °C avant d'être plantés le 11 octobre.

| Cultivar | Date de floraison et rang de précocité | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Champ | | Serre chauffée (13°-17 °C) | | Serre froide (5 °C mini.) | |
| | Date | Rang | Date | Rang | Date | Rang |
| « Abodement » | 20 mars | 1 | 27 novembre | 1 | 5 décembre | 1 |
| « Victor Mundi » | 23 mars | 2 | 6 décembre | 3 | 17 décembre | 4 |
| « Early Queen » | 28 mars | 3 | 9 décembre | 5 | 12 décembre | 2 |
| « Roland » | 30 mars | 4 | 11 décembre | 7 | 24 décembre | 7 |
| « Emmy Peeck » | 31 mars | 5 | 4 décembre | 2 | 16 décembre | 3 |
| « Dix's Favourite » | 1er avril | 6 | 7 décembre | 4 | 18 décembre | 5 |
| « Snowstar » | 4 avril | 7 | 10 décembre | 6 | 20 décembre | 6 |
| « Paul Richter » | 5 avril | 8 | 12 décembre | 8 | 27 décembre | 9 |
| « Red Fox » | 6 avril | 9 | 16 décembre | 10 | 28 décembre | 10 |
| « Annecy » | 10 avril | 10 | 14 décembre | 9 | 26 décembre | 8 |
| « Don Quichotte » | 13 avril | 11 | 18 décembre | 11 | 2 janvier | 11 |
| « William Copland » | 19 avril | 12 | 20 décembre | 12 | 9 janvier | 12 |

Le calcul du coefficient de corrélation de rang de SPEARMAN donne :
— corrélation rang de floraison champ/serre chauffée = 0,896(**),
— corrélation rang de floraison champ/serre froide = 0,910(**),
— corrélation rang de floraison serre chauffée/serre froide = 0,952(**).

(**) Significatif au seuil 1 p. 100.

La comparaison entre les classements des cultivars selon leur précocité de floraison au champ et selon leur précocité de floraison en serre se révèle très intéressante. Les résultats fournis par 12 cultivars différant par leur précocité de floraison

au champ sont portés dans le tableau 2. L'utilisation du coefficient de corrélation de rang de SPEARMAN (SNEDECOR et COCHRAN, 1957) met en évidence l'existence d'une forte corrélation entre le rang de précocité de floraison au champ et le rang de précocité de floraison en serre (chauffée ou non) d'une part et entre le rang de précocité de floraison en serre chauffée et le rang de précocité de floraison en serre froide d'autre part (Le jugement d'un hybride peut donc se faire en serre froide.)

Il découle de ceci que la précocité de floraison au champ d'un hybride, jugée par rapport à celle d'un témoin au comportement bien connu, constitue déjà une bonne indication de la précocité de floraison que l'on peut espérer obtenir en serre.

TABLEAU 3

*Influence du calibre du bulbe planté sur la date de floraison et la hauteur des plantes à ce stade.* La hauteur représente la distance qui sépare le niveau du sol de la base du bouton floral, au début de la floraison

| Cultivar | | Calibre du bulbe planté (Circonférence en cm) > 11 cm | 7/9 cm |
|---|---|---|---|
| « Apeldoorn » | Date de floraison . . . . | 16 avril | 18 avril |
| | Hauteur (cm) à la floraison | 40,2 | 39,1 |
| « Paul Richter » | Date de floraison . . . . | 15 mars | 23 mars |
| | Hauteur (cm) à la floraison | 30,1 | 30,8 |

Quand un hybride fleurit pour la première fois en plein air, le bulbe n'a pas encore atteint sa taille maximale et la question se pose de savoir si la taille du bulbe n'influence pas la précocité de floraison. Les résultats du tableau 3 indiquent que les bulbes de petite taille ont tendance à fleurir plus tard que les gros. Dans un programme de sélection ce fait n'est pas gênant car le tri pour la précocité pratiqué dès la première floraison des hybrides ne peut être que plus sévère.

2. *Longueur de la hampe florale lors de la floraison au champ et en serre.*

Au champ, la longueur de la hampe florale varie selon le cultivar et parfois aussi d'une année à l'autre. Ces variations annuelles, dues essentiellement aux conditions de conservation des bulbes et aux conditions de milieu après plantation, sont surtout sensibles chez les cultivars dont la floraison, sous nos conditions, est précoce (cf. tableau 1).

A l'intérieur d'un même groupe de précocité de floraison au champ, il est possible d'observer des différences nettes entre cultivars quant à la longueur de

leurs hampes florales. Les résultats portés dans le tableau 4 concernent 16 cultivars à floraison précoce au champ (floraison avant la mi-avril). En forçage précoce, à la suite d'une préparation thermique uniforme des bulbes, ces cultivars produisent des hampes florales dont les longueurs sont encore différentes (tabl. 4). En classant les cultivars en fonction de la longueur de leurs hampes florales et en utilisant le coefficient de corrélation de rang de SPEARMAN (SNEDECOR et COCHRAN, 1957), il est possible de mettre en évidence une corrélation entre le classement des cultivars au champ et leur classement en serre.

TABLEAU 4

*Longueur de la hampe florale des plantes de 16 cultivars d'un même groupe de précocité, lors de leur floraison au champ et en serre. Année 1974*

Hauteur prise sous le bouton floral, au début de la floraison

Les bulbes plantés en serre ont subi, avant plantation, la préparation thermique indiquée au tableau 2

| Cultivar | Longueur de la hampe florale et rang de longueur — Au champ h (cm) | Au champ Rang | En serre (13°-17 °C) h (cm) | En serre (13°-17 °C) Rang |
|---|---|---|---|---|
| « Purple Marvel » | 36 | 1 | 32 | 8 |
| « Most Miles » | 35 | 2 | 50 | 2 |
| « Demeter » | 31 | 3 | 44 | 4 |
| « Roland » | 28 | 4 | 31 | 9 |
| « Emmy Peeck » | 27 | 5 | 47 | 3 |
| « Pink Trophy » | 26 | 6 | 30 | 10 |
| « Van der Eerden » | 25 | 7 | 54 | 1 |
| « Dix's Favourite » | 23 | 8 | 42 | 5 |
| « Imperator » | 21 | 9 | 35 | 7 |
| « Early Queen » | 20 | 10 | 38 | 6 |
| « Cellini » | 16 | 11 | 23 | 13 |
| « Christmas Marvel » | 15 | 12 | 26 | 11 |
| « Keizerskroon » | 10 | 13 | 24 | 12 |
| « Diana » | 8 | 14 | 21 | 14 |
| « Brilliant Star » | 7 | 15 | 11 | 15 |
| « Proserpine » | 3 | 16 | 10 | 16 |

Le calcul du coefficient de corrélation de rang de SPEARMAN donne : corrélation rang de longueur à la floraison au champ/rang de longueur à la floraison en serre = 0,756**.

(**) Significatif au seuil 1 p. 100.

La longueur de la hampe florale lors de la floraison d'un hybride au champ fournirait donc déjà une indication sur son comportement ultérieur en forçage précoce.

Comme pour la précocité de floraison, il est intéressant de considérer l'influence de la taille du bulbe planté sur la longueur de la hampe florale au champ. Il apparaît

que cette influence est négligeable (cf. tabl. 3). Pour que les comparaisons soient valables, il est cependant nécessaire que les bulbes soient plantés dans des conditions identiques non seulement de milieu mais aussi de densité, une plantation dense fournissant généralement des plantes plus longues (REES et TURQUAND, 1969).

3. *Recherche d'un critère de sélection pour la précocité chez des bulbes non florifères.*

Une sélection appliquée alors que les bulbes ne sont pas encore florifères nécessite la mise en évidence de corrélations entre des caractères des plantes issues de bulbes florifères et des caractères des plantes issues de bulbes non florifères.

Dans un même lieu de production, les cultivars à floraison précoce mûrissent avant les cultivars à floraison tardive. Si l'on récolte des bulbes des deux groupes de cultivars lors de la maturité des plus précoces, on constate qu'il est possible de différencier les groupes de précocité d'après la couleur des tuniques des bulbes. Les cultivars à floraison précoce, qui sont mûrs, présentent des bulbes dont les tuniques sont bien colorées (marron) alors qu'à cette même date les bulbes des cultivars tardifs possèdent des tuniques pratiquement blanches.

Cette observation suggère que la couleur de la tunique du bulbe à la récolte pourrait permettre de séparer les hybrides précoces des hybrides tardifs.

TABLEAU 5

*Répartition des bulbes d'après la couleur de leur tunique en deuxième année en fonction de leur origine* (bulbes dont la tunique était blanche ou colorée en fin de première année).

| Croisement | Bulbes à tunique colorée en 1re année — Deuxième année : Nombre de bulbes à tunique | | Bulbes à tunique blanche en 1re année — Deuxième année : Nombre de bulbes à tunique | |
|---|---|---|---|---|
| | Colorée | Blanche | Colorée | Blanche |
| « Andes » × « Emmy Peeck » | 77 | 33 | 53 | 88 |
| « Andes » × « Most Miles » | 111 | 18 | 42 | 65 |
| « Annecy » × « Brilliant Star » | 50 | 8 | 28 | 34 |
| « Marshall Haig » × « Early Queen » | 180 | 30 | 14 | 51 |
| « Marshall Haig » × « Van der Eerden » | 50 | 24 | 20 | 85 |
| « Pontiac » × « Van der Eerden » | 78 | 32 | 51 | 189 |
| « Wilhem Tell » × « Victor Mundi » | 173 | 35 | 55 | 133 |

Des bulbes issus de graines (premier cycle de grossissement) ont été récoltés à la même date et classés en 3 groupes d'après l'aspect de leur tunique : bien colorée, blanche, intermédiaire. Des bulbes appartenant aux groupes extrêmes, tunique bien colorée ou tunique blanche, ont été plantés séparément à l'extérieur. A la fin du deuxième cycle de grossissement les bulbes-fils sont récoltés à une même date et la couleur de leur tunique a été contrôlée. Les résultats des observations (tabl. 5)

indiquent que dès la deuxième année la séparation n'est plus aussi rigoureuse, bien que dans chaque groupe la couleur notée la première année soit prédominante.

En fait, il apparaît que l'utilisation du critère couleur de la tunique du bulbe pose au moins deux problèmes : il est très difficile de récolter les bulbes tous les ans à un même degré de maturité (niveau de sélection) et, surtout, pour que ce critère soit valable, il est indispensable que la maturité des plantes soit naturelle et non due à un parasite ou à un accident quelconque. Ceci implique que les semis soient faits dans un milieu dont on contrôlerait tous les éléments.

## IV. — Discussion — Conclusions

Le long délai qui sépare le semis de la première floraison d'un bulbe issu de semis est un obstacle important à l'amélioration rapide de la Tulipe. L'aptitude d'un bulbe à différencier une fleur dépendant essentiellement de son poids, il est très important de placer les semis et les bulbes issus de semis dans les conditions les plus favorables au grossissement.

Le coefficient de multiplication d'un clone de Tulipe se situe généralement entre 2 et 3. Pour pouvoir juger assez rapidement tout nouvel hybride, il faut disposer de critères de sélection applicables à des clones ne possédant encore qu'un petit nombre de bulbes afin d'éviter de nombreux cycles de multiplication qui retarderaient le jugement.

Dans le cadre de la sélection de plantes possédant une bonne aptitude au forçage précoce, l'étude du comportement au champ et en serre d'un grand nombre de cultivars a permis de mettre en évidence deux corrélations : l'une entre l'ordre de floraison en plein air et l'ordre de floraison en serre, l'autre entre le classement des cultivars selon leur taille au champ et leur classement en serre. Le comportement d'un hybride en plein air fournira donc déjà une bonne indication sur son comportement ultérieur en serre. L'utilisation des deux critères de sélection, précocité de floraison et longueur de la hampe florale, qui caractérisent l'aptitude au forçage précoce, doit permettre de faire un choix parmi les hybrides dès leur première floraison en plein air. Ce choix pourra aussi tenir compte de l'esthétique de la plante (fleur, port...)

Il faut remarquer que sous un climat à hivers doux, durant lesquels la croissance des plantes est possible, les divers degrés de précocité de floraison peuvent sans doute mieux s'extérioriser (floraisons très échelonnées) que sous un climat à hivers froids suivis de printemps assez chauds. Sous ces dernières conditions, la croissance de tous les cultivars, arrêtée pendant l'hiver, peut reprendre rapidement au printemps ce qui conduit à des floraisons plus groupées.

Quand un hybride aura été sélectionné lors de sa première floraison en plein air, il sera ensuite important de pouvoir confirmer le plus tôt possible ce premier jugement en étudiant le comportement de l'hybride en serre. Il a été possible de montrer que l'aptitude au forçage précoce d'un cultivar peut être valablement déterminée en comparant son comportement à celui d'un cultivar témoin. La précocité du témoin constitue un crible de sélection et celle-ci sera d'autant plus sévère que le témoin est précoce. Au cours de la préparation thermique pour le forçage, le cultivar témoin est le seul à faire l'objet de dissections de bulbes pour le contrôle de la différenciation florale. Cette façon de procéder qui évite la destruction de gros bulbes chez l'hybride à juger présente un double intérêt. D'une part, l'aptitude au forçage précoce pourra être précisée alors que le clone ne comprendra

encore que quelques gros bulbes (4 ou 5) et d'autre part on évite la destruction d'un matériel végétal très précieux dans les premiers stades de multiplication d'un clone.

Le fait de disposer de critères de sélection applicables dès la première floraison en plein air des hybrides puis de pouvoir rapidement préciser leur comportement en serre devrait rendre le travail plus efficace tout en l'allégeant sur le plan matériel.

Les résultats obtenus montrent qu'il paraît assez délicat d'utiliser chez des bulbes non encore florifères un critère de sélection basé sur la précocité de maturité des plantes dans le cas où les semis et les bulbes issus de semis réalisent leurs cycles végétatifs en conditions naturelles. L'utilisation d'un tel critère de sélection ne paraît envisageable que si l'on travaille en conditions contrôlées. A noter que cette remarque semble devoir aussi être prise en considération pour l'utilisation valable de critères de sélection précoce portant sur d'autres caractères tels que la date de levée des plantes et le grossissement des bulbes-fils (Van Eijk, 1971; Van Eijk et Toxopeus, 1968; Van Eijk et Leegwater, 1975). Si une sélection pour la précocité peut être envisagée chez des bulbes non florifères, le jugement de la longueur de la hampe florale et de l'esthétique de la plante (couleur et type de fleur, port de la plante...) ne pourra de toute façon qu'intervenir plus tard.

*Reçu pour publication en décembre 1976.*


## Summary

*Tulip breeding for forcing ability. Research of criteria for selection*

Selection of cultivars with a good early forcing ability is at present the most important aim of tulip breeding work. Such cultivars must be able to flower early during winter in glasshouse where the bulbs are planted after they have received a low temperature treatment. They also must produce flowers of good quality, the length of the flowering scape being an important criterion of quality for the French market.

The long period of about 5 years required to obtain the flowering of tulip bulbs from seeds and a low propagation rate are two impediments for rapid progress in tulip breeding.

Generally a new cultivar is first selected in the field for the type of flower, earliness of flowering, bulb production, etc... To determine the forcing ability of a cultivar it is necessary to control the flower differentiation which must be complete before the bulbs are subjected to the low temperature treatment. These controls need bulbs dissections and lead to bulbs destruction. Therefore the forcing ability can only be determined when a new cultivar is already represented by many large bulbs. The production of these large bulbs requires several years and delays selection for forcing ability.

To make an earlier selection it is necessary to determine criteria which avoid bulbs destruction and can be applied when one has only a few large bulbs of the cultivar.

Forcing a great number of tulip cultivars, the bulbs of all the cultivars having received the same preparation before planting, shows that the early forcing ability of a cultivar can be determined by comparing it to a wellknown cultivar used as control. During the preparation of bulbs for forcing, the differentiation of the flowering bud is only observed in the control. That method avoids destruction of bulbs and makes possible selection for early forcing ability in a new clone with a little number of large sized bulbs.

Studies on the behaviour of a great number of tulip cultivars, in the open as well as in the glasshouse, has made possible to determine two correlations: a first one between the flowering order in the open and in the glasshouse, a second one between the range of the cultivars in the length of their flowering scape in the open and in glasshouse. These correlations make possible a selection for early forcing ability when hybrids flower for the first time in the open.

The bulbs of early flowering cultivars show a coloured skin earlier than the late flowering ones. When harvesting the bulbs at a same date it would therefore be possible to make a selection for earliness according to the colour of the skin. It appears difficult to use this criterion for a very early selection (with non flowering bulbs) when working under non controlled conditions.

## Références bibliographiques

VAN EIJK J. P., 1971. Prospects of preselection in tulip breeding. *Acta Hort.*, **23**, 401-406.

VAN EIJK J. P., TOXOPEUS S. J., 1968. The possibilities of early selection for forcing ability and productivity in tulips. *Euphytica*, **17**, 277-283.

VAN EIJK J. P., LEEGWATER J., 1975. Criteria for early selection in tulip breeding. *Acta Hort.*, **47**, 179-185.

FORTANIER E. J., 1971. Shortening the period from seed to a flowering bulb in tulip. *Acta Hort.*, **23**, 413-420.

FORTANIER E. J., VAN BRENK G., 1975. Dormancy of seeds as compared with dormancy of bulbs in tulips. *Acta Hort.*, **47**, 331-338.

HARTSEMA A. M., 1961. Influence of temperature on flower formation and flowering of bulbous and tuberous plants. *Handb. der Pflanzenphysiol.*, **16**, 123-167, W. Ruhland (Ed.) Springer Verlag, Berlin.

LE NARD M., 1975. La préparation et le forçage des bulbes de tulipe. *Hortic. fr.*, n° 53, 13-18.

REES A. R., TURQUAND E. D., 1969. Effects of planting density on bulb yield in the tulip. *J. appl. Ecol.*, **6**, 349-358.

SNEDECOR G. W., COCHRAN W. G., 1957. *Méthodes Statistiques.* (Traduction éditée par Acta, Paris, 1971) p. 214-217.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (4), 465-475.

# Influence des modalités de séchage sur la mesure de la teneur des fourrages en éléments azotés et glucidiques Conséquences lors des récoltes d'essais en champs

M. LILA

avec la collaboration technique de Monique BUCHER et de A. SAUVION.

*Station d'Amélioration des Plantes fourragères, I.N.R.A., 86600 Lusignan*

## Résumé

La récolte des échantillons de fourrages au champ, produits frais, pose des problèmes importants lorsque ces échantillons sont soumis ensuite à l'analyse de constituants tels que azote organique soluble, azote nitrique et glucides solubles.

Deux expériences ont été réalisées. La première nous a permis de montrer que si le mode de conservation des échantillons était la dessiccation à chaud, les étuves devaient être déjà à la température de séchage lors de l'introduction du fourrage. La deuxième nous a conduit à conclure que les échantillons frais ne devaient pas attendre plus de 4 heures 30 avant d'être introduits dans les étuves. Au-delà de ce temps les variations des teneurs mesurées variaient énormément en fonction du temps écoulé et des interactions importantes apparaissaient en fonction du « passé nutritionel » de la plante.

Sur un plan pratique nous avons conclu que les échantillons prélevés doivent être séchés le plus rapidement possible et qu'en conséquence il était parfois souhaitable de récolter un essai en plusieurs étapes afin d'assurer une dessiccation correcte.

## Introduction

La récolte des échantillons de fourrages au champ pose d'importants problèmes. Le produit récolté est un produit frais, en général en pleine activité métabolique, et la fauche de la plante ne stoppe pas nécessairement les réactions biochimiques en cours. Certaines déterminations analytiques que nous sommes amenés à réaliser correspondent à des produits situés à des étapes intermédiaires du métabolisme et sont donc relativement sensibles à tout accident (coupe). Il est alors évident que les données à recueillir conditionneront l'organisation du chantier de récolte.

Il existe différents procédés pour figer et bloquer les réactions : dessiccation à chaud, cryodessiccation, trempage dans certaines solutions (alcool bouillant par

exemple). Mais compte tenu des contraintes matérielles (volume et nombre des échantillons, éloignement des chantiers de récolte) ces deux derniers moyens ne peuvent être mis en œuvre. A Lusignan et dans la plupart des stations d'études fourragères on utilise la dessiccation à chaud; les échantillons de produits frais sont mis dans des paniers métalliques perforés de nombreux trous, pesés, et attendent au moins la fin de la récolte de l'essai, soit 1 à 3 heures, avant d'être introduits dans les étuves à matière sèche, parfois du fait de l'encombrement de celles-ci l'attente est de 24 heures.

Nous avons voulu déterminer dans quelle mesure cette organisation du travail ainsi que les différences de fonctionnement entre des étuves pouvaient introduire des modifications sur les teneurs en : glucides solubles, azote organique soluble et azote nitrique. Pour un génotype donné nous avons fait varier la fumure azotée afin d'obtenir des teneurs différentes en ces éléments. Nous avons alors réalisé deux expériences; la première nous ayant permis essentiellement de préciser les modalités de mise au séchage (étuves déjà chaudes ou froides au moment de l'introduction des échantillons), dans la deuxième nous avons estimé l'influence du temps d'attente après la coupe sur les teneurs et nous avons situé l'importance des interactions possibles entre ces deux facteurs.

## Expérience préliminaire

### *Matériel et méthode*

*Matériel végétal*

Fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Sch) variété « Ludelle » semée au printemps 1973. Coupe du 25 octobre 1975 à un stade végétatif.

Différents rythmes d'exploitation et différents apports de fumure azotée ont été appliqués sur cet essai (tabl. 1). Une seule parcelle par traitement a été récoltée, l'étude réalisée n'étant en fait qu'un sondage.

TABLEAU 1

*Expérience préliminaire*

Description des quatre traitements réalisés dans l'essai implanté au printemps 1973 (coupe du 29-10-1975)

| Numéro du traitement | Rythme d'exploitation au printemps | Apport d'azote après chaque coupe kg/ha | Apport d'azote à l'entrée de l'hiver kg/ha |
|---|---|---|---|
| $N_1$ | Déprimage | 30 | 60 |
| $N_2$ | Épi à 10 cm | 30 | 60 |
| $N_3$ | Déprimage | 60 | 120 |
| $N_4$ | Déprimage | 90 | 180 |

*Étuves*

4 étuves de marque Lequeux, type Jouy (capacité d'une étuve : 40 paniers à prélèvement de 500 g de matière verte) et 1 étuve Heraeus (capacité 208 paniers). Les quatre premières n'ont été mises en fonctionnement qu'au moment de l'introduction des paniers. La dernière a été enclenchée avant la récolte de telle sorte qu'elle soit déjà en température à la mise en place des échantillons. *A priori*, nous pensions que seul le temps écoulé entre la coupe et la mise au séchage aurait une influence sur les teneurs mesurées ensuite, et à un degré moindre la manière dont l'étuve atteignait la température désirée, c'est la raison pour laquelle celle de grande capacité a été traitée différemment.

Température maximale atteinte : 80 °C, durée du séchage : 24 heures à partir de l'introduction.

— Modalités de la mise en dessiccation.

Pour chaque traitement 8 prélèvements de 500 g de matière verte ont été réalisés et introduits au séchage de la manière suivante : dès la coupe (temps $t_0$) 1 panier est introduit dans l'étuve à 80° ($\theta$), 1 autre panier dans une étuve enclenchée à ce moment-là (o); même manipulation 1 heure, 2 heures, et 3 heures après la coupe. Nous avons donc les combinaisons suivantes : $t_0\theta$, $t_0$o, $t_1\theta$, $t_1$o, $t_2$o, $t_2\theta$, $t_3\theta$, $t_3$o, soit 32 échantillons ($t\theta$ correspond à une étuve, $t$o correspond à 4 étuves) ce qui est résumé dans le tableau 2.

TABLEAU 2

*Expérience préliminaire*

Combinaisons temps-étuves réalisées pour chacun des quatre traitements azotés (la température o correspond en fait à 20 °C)

| N° Étuve | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Température de l'étuve | | o | o | o | o | $\theta$ |
| Temps | $t_0$ | × | | | | × |
| | $t_1$ | | × | | | × |
| | $t_2$ | | | × | | × |
| | $t_3$ | | | | × | × |

— Préparation des échantillons : après dessiccation de 24 heures les échantillons sont pesés puis broyés pour passer au travers d'un tamis de 5/10 mm et stockés en boîtes hermétiques en vue d'analyse.

*Méthodes d'analyse*

— Azote organique total : semi-micro Kjeldahl sur 100 mg de matière sèche (2 répétitions analytiques). Après minéralisation détermination de l'ion $NH^+$ sur auto-analyseur de marque Technicon, suivant la méthode de Berthelot : réaction avec le phénate de soude et l'hypochlorite de sodium pour former du bleu d'indophénol, absorption mesurée à 625 nm.

— Azote organique soluble : même opération que ci-dessus sur l'extrait en solution aqueuse de phosphate de sodium (Mac Rae, 1970).

— Azote nitrique : extraction à l'eau, dosage sur auto-analyseur (réduction en nitrite par le sulfate d'hydrazine et réaction colorée avec du sulfanilamide après copulation avec du N-1-N naphtyléthylène diamine, mesurée à 520 nm).

— Glucides solubles : extraction à l'eau à 40 °C, hydrolyse sur la solution d'extraction, dosage par réduction sur auto-analyseur d'un chelate cuivrique-néocuproïne en un complexe cuivreux-néocuproïne, après chauffage à 87 °C lecture de la densité optique à 460 nm.

## *Résultats et discussion*

Les très faibles teneurs en azote nitrique pour trois traitements sur quatre nous ont conduits à ne pas tenir compte de cet aspect.

Les teneurs en glucides solubles, azote organique soluble et azote organique total sont représentées dans les figures 1, 2 et 3.

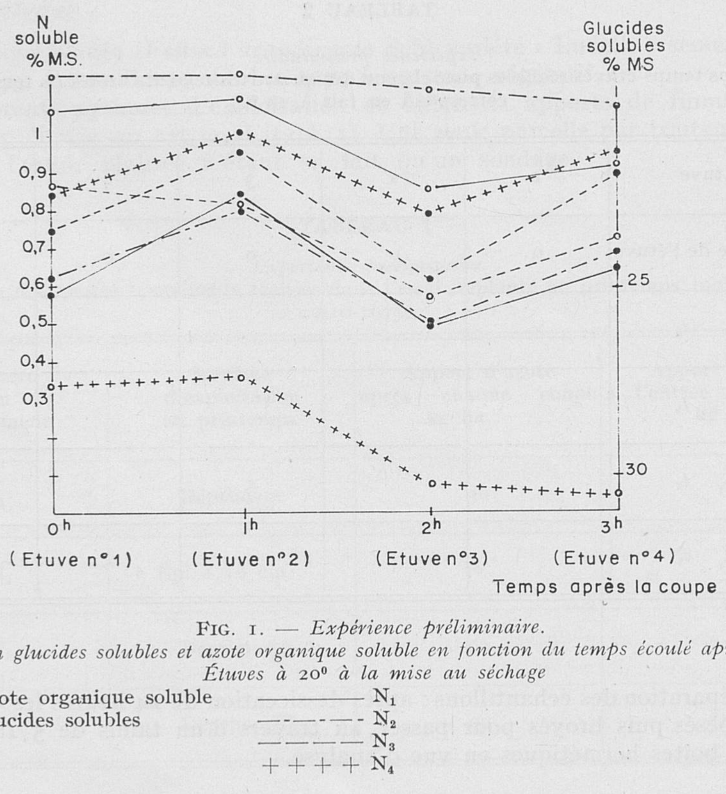



FIG. 1. — *Expérience préliminaire.*
*Teneurs en glucides solubles et azote organique soluble en fonction du temps écoulé après la coupe. Étuves à 20° à la mise au séchage*

○ azote organique soluble ———— $N_1$
● glucides solubles —·—·—· $N_2$
— — — — $N_3$
+ + + + $N_4$

On remarque que pour l'azote organique total (fig. 3) le type d'étuve et la température de celle-ci à l'introduction des échantillons modifient très peu les teneurs mesurées; les écarts observés peuvent sans doute être imputés à l'imprécision des mesures (pas de répétition sans les prélèvements, ni au niveau des analyses). A l'inverse, tant en glucides qu'en azote soluble on observe une très forte

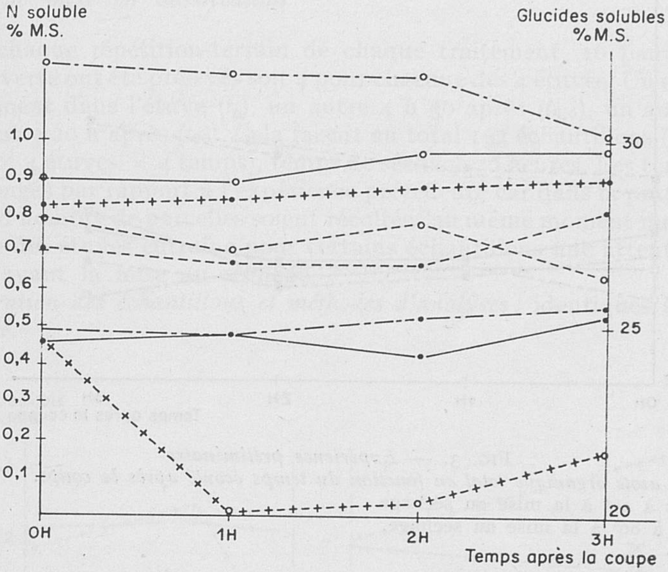



FIG. 2. — *Expérience préliminaire*

*Teneurs en glucides solubles et azote organique soluble en fonction du temps écoulé après la coupe. Étuve n° 5 à 80° à la mise au séchage.*

○ azote organique soluble ——— $N_1$

● glucides solubles —·—·— $N_2$

- - - - $N_3$

++++ $N_4$

variation lorsque les étuves sont à 20 °C à la mise en place des paniers à prélèvement (fig. 1). A l'effet du temps écoulé après la coupe se superpose un effet d'écart de fonctionnement des étuves; les échantillons mis au séchage au temps $t_{20}$, par exemple, ayant été introduits dans la même étuve, ont évolué davantage en fonction de la mise en température de celle-ci que du temps passé à attendre après la coupe. Lorsque l'étuve est déjà en température ces écarts sont nettement réduits et les courbes d'évolution en fonction du temps après la coupe sont plus régulières et laissent bien entrevoir une liaison inverse entre les teneurs en glucides et azote organique solubles.

Une analyse statistique de ces résultats nous montre d'ailleurs que pour la teneur en azote organique soluble, pour 80 °C lors de la mise en séchage, le rapport variance traitement /variance temps, est de 18,36 alors que pour 20 °C ce rapport est de 0,92. En ce qui concerne la teneur en glucides solubles l'écart est moins marqué et les rapports de variance passent de 37,07 à 13,43.

Ces résultats nous ont conduits à réaliser une deuxième expérience dans laquelle :

- toutes les étuves seraient déjà à la température de 80 °C à la mise en place des échantillons.

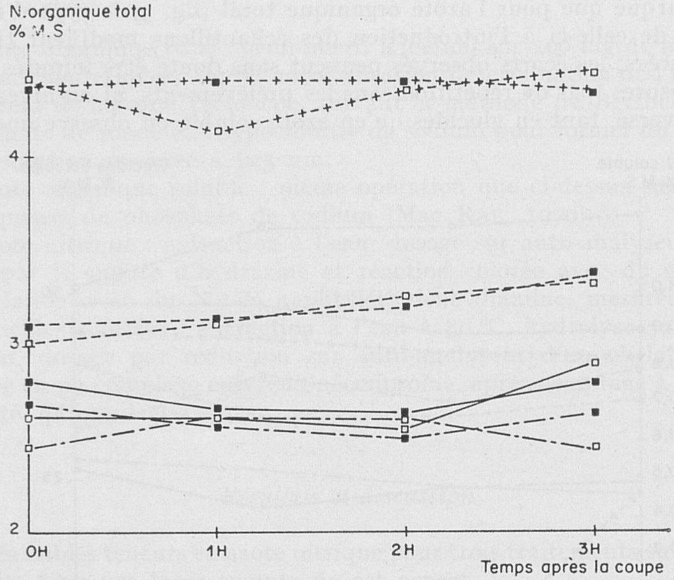



FIG. 3. — *Expérience préliminaire*
*Teneur en azote organique total en fonction du temps écoulé après la coupe.*
□ Étuves à 20° à la mise au séchage
■ Étuve à 80° à la mise au séchage.
———— $N_1$
—·—·—· $N_2$
— — — — $N_3$
+ + + + $N_4$

● les temps d'attente après la coupe seraient plus longs afin de mieux répondre aux conditions habituelles de récolte.

## Expérience principale

### *Matériel et méthode*

*Matériel végétal*

Fétuque élevée (*Festuca arundinacea*) variété « Ludelle » semée au printemps 1975. Coupe du 6 mai 1976. Les apports de fumure azotée ont été différenciés de la manière suivante :

- $N_1$ : 30 kg/ha d'azote à l'automne + 30 kg/ha au 1er mars — total : 60 kg/ha
- $N_2$ : 30 kg/ha d'azote à l'automne + 150 kg/ha au 1er mars — total : 180 kg/ha
- $N_3$ : 150 kg/ha d'azote à l'automne + 30 kg/ha au 1er mars — total : 180 kg/ha
- $N_4$ : 210 kg/ha d'azote à l'automne + 150 kg/ha au 1er mars — total : 360 kg/ha

Pour chaque traitement nous avons effectué les prélèvements sur trois répétitions-terrain.

*Étuves*

4 étuves de marque Lequeux type Jouy remplies de fourrage frais et mises en température avant la coupe de l'essai afin d'avoir le maximum d'homogénéité.

*Modalités de mise en dessiccation*

Pour chaque répétition-terrain de chaque traitement, 16 paniers de 500 g de matière verte ont été prélevés soit 4 pour chacune des 4 étuves. Un a été introduit immédiatement dans l'étuve ($t_0$), un autre 4 h 30 après ($t_{4,5}$), un autre 6 h après ($t_6$) et un autre 20 h après ($t_{20}$). Cela faisait au total 192 échantillons (4 traitements × 3 blocs × 4 étuves × 4 temps), temps de séchage 20 heures. Les temps d'attente ont été allongés par rapport à l'expérience précédente car dans la pratique il arrive qu'un grand nombre de parcelles soient récoltées au même moment mais la capacité insuffisante des étuves entraîne pour certains échantillons une attente d'au moins 24 heures avant la mise au séchage.

*Préparation des échantillons et méthodes d'analyses :* identiques à l'expérience préliminaire.

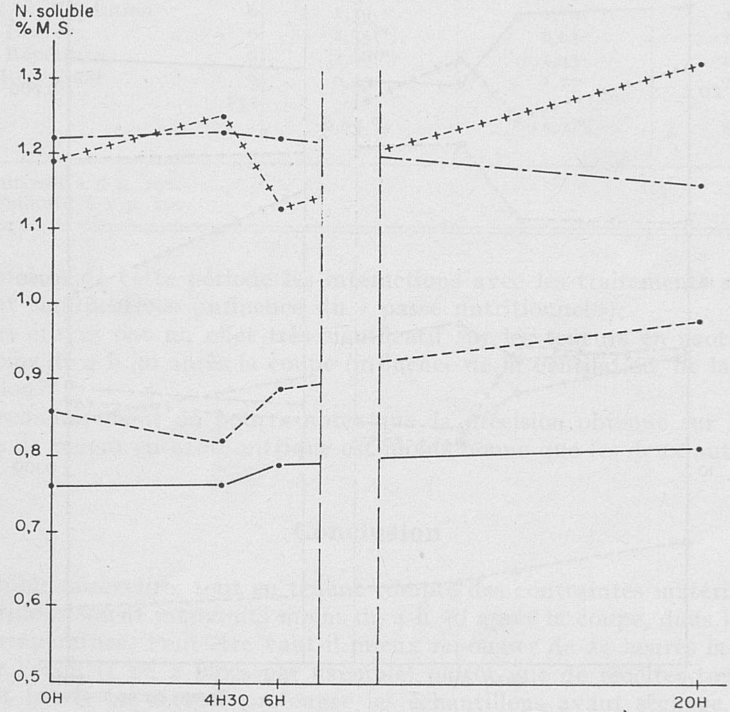



FIG. 4. — *Expérience principale.*
*Évolution de la teneur en azote organique soluble en fonction du temps écoulé après la coupe.*

———— $N_1$
—·—·— $N_2$
— — — $N_3$
+ + + + $N_4$

## *Résultats et discussion*

### *Interprétation biologique des résultats*

Les figures 4 et 5 nous conduisent à conclure que la période située entre $t_{4,5}$ et $t_6$ est très critique pour l'évolution des réactions enzymatiques des plantes coupées. Mais cette évolution est sous la dépendance du « passé nutritionnel » de la plante ce qui se vérifie dans le fait que pour chaque traitement le sens des courbes d'évolution des teneurs en azote nitrique est inverse de celui des teneurs en glucides et donc n'est pas le fait du hasard. Ce phénomène n'est pas niable, mais quoi qu'il en soit, il est difficile de l'interpréter; les moyens d'approche ne sont pas en notre possession, en particulier la connaissance des teneurs et de la composition en réserves azotées et glucidiques au cours de l'hiver et à la suite des apports de fumure à l'automne et au printemps.

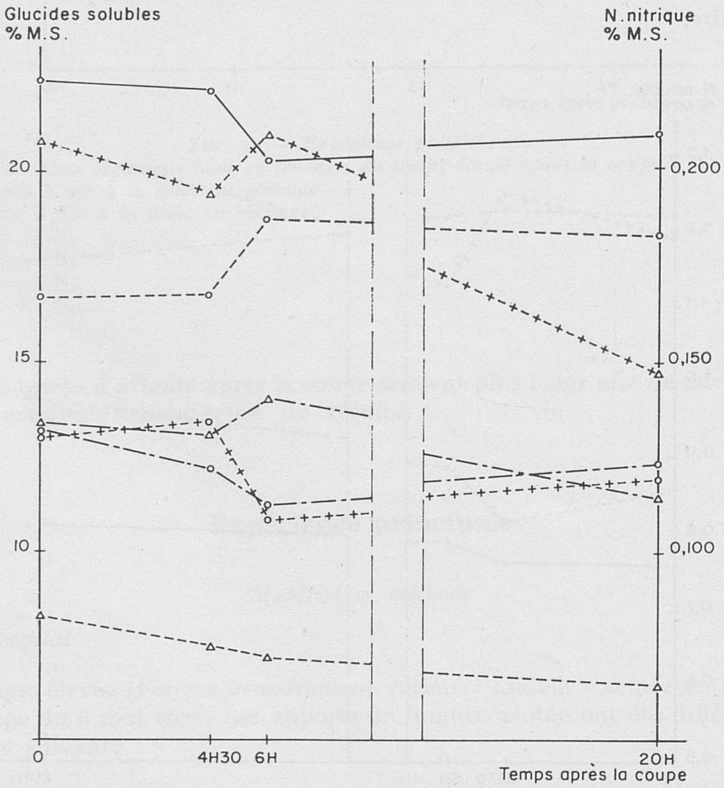



FIG. 5. — *Expérience principale.*
*Évolution de la teneur en glucides solubles et azote nitrique en fonction du temps écoulé après la coupe.*
(*Teneurs nulles en azote nitrique pour $N_1$*)

| | | | |
|---|---|---|---|
| ———— | $N_1$ | ● | glucides |
| —·—·—·— | $N_2$ | △ | azote nitrique |
| — — — — | $N_3$ | | |
| ++++ | $N_4$ | | |

*Interprétation statistique des résultats*

Les tableaux 3 et 4 résument les résultats de l'analyse statistique. Au vu de ceux-ci on remarquera que :

— le temps après la coupe a un effet hautement significatif sur les teneurs lorsqu'il dépasse 4 h 30;

TABLEAU 3

*Analyse de variance des différents effets (les 4 temps sont inclus) sur les trois déterminations. Pour les nitrates l'analyse ne porte que sur les traitements* $N_2$, $N_3$ *et* $N_4$

| $T_0$, $T_{4,5}$, $T_6$, $T_{24}$ | dl | N soluble | $NO_3$ | Glucides |
|---|---|---|---|---|
| Traitement | 3 | 490,94(**) | 1 057(**) | 491,39(**) |
| Temps | 3 | 6,53(**) | 26,8(**) | 8,43(**) |
| Étuve | 3 | 5,14(**) | 1,43 - | 0,27 - |
| Répétition | 2 | 3,41(*) | 1,51- | 0,22 - |
| Traitement × Temps | 9 | 7,43(**) | 6,94(**) | 3,98(**) |
| Traitement × Étuve | 9 | 0,86 - | 1,79- | 1,78 - |
| Traitement × Répétition | 6 | 1,39 - | 2,70(*) | 2,19(*) |
| Temps × Étuve | 9 | 2,35(*) | 0,65- | 1,74 - |
| Temps × Répétition | 6 | 2,26(*) | 1,43- | 1,09 - |
| Étuve × Répétition | 6 | 0,43 - | 1,77- | 2,90(**) |
| Résiduelle | 135 | | | |
| C.V. | | 6,83 % | 15,7 % | 8,81 % |

(*) Significatif à 5 p. 100.
(**) Significatif à 1 p. 100.

— au-delà de cette période les interactions avec les traitements sont aussi hautement significatives (influence du « passé nutritionnel »);

— les étuves ont un effet très significatif sur les teneurs en azote soluble, même moins de 4 h 30 après la coupe (influence de la ventilation, de la place de l'échantillon ?);

— secondairement on pourra noter que la précision obtenue sur les déterminations de teneur en azote nitrique est moins bonne que les deux autres.

## Conclusion

Il semble nécessaire, tout en tenant compte des contraintes matérielles, que les échantillons soient introduits moins de 4 h 30 après la coupe, dans les étuves déjà en température. Peut-être vaut-il mieux repousser de 24 heures la fin de la récolte de l'essai (1 ou 2 blocs par exemple) plutôt que de récolter tout en une journée et laisser en attente prolongée les échantillons avant séchage.

Le fonctionnement des étuves devra être particulièrement surveillé et dans la mesure du possible les échantillons d'une même répétition-terrain introduits dans la même étuve (l'effet étuve reste significatif sur la teneur en azote soluble entre $t_0$ et $t_{4,5}$. Tabl. 4).

Il ne semble pas nécessaire de s'équiper d'un appareillage complexe et sophistiqué pour réaliser des études précises sur l'évolution ou la variation de la qualité

TABLEAU 4

*Analyse de variance des différents effets (les temps $t_0$ et $t_{4,5}$ sont seuls inclus) sur les déterminations. Pour les nitrates l'analyse ne porte que sur les traitements $N_2$, $N_3$, et $N_4$ (teneur nulle pour $N_1$).*

| $T_0$ — $T_{4,5}$ | | N soluble | $NO_3$ | Glucides |
|---|---|---|---|---|
| Traitement | 3 | 280,78(**) | 507(**) | 157,34(**) |
| Temps | 1 | 0,31 - | 4 - | 0,34 - |
| Étuve | 3 | 5,65(**) | 0,69 - | 1,09 - |
| Répétition | 2 | 1,10 - | 0,69 - | 0,26 - |
| Traitement × Temps | 3 | 2,29 - | 0,33 - | 0,71 - |
| Traitement × Étuve | 9 | 0,55 - | 2,35(*) | 0,91 - |
| Traitement × Répétition | 6 | 0,94 - | 2,91(*) | 1,28 - |
| Temps × Étuve | 3 | 2,08 - | 0,82 - | 1,21 - |
| Temps × Répétition | 2 | 4,51(*) | 0,87 - | 0,90 - |
| Étuve × Répétition | 6 | 0,63 - | 2,33 - | 1,74 - |
| Résiduelle | 57 | | | |
| C.V. | | 7,07 % | 15,6 % | 10,57 % |
| × $NO_3$ 3 parcelles seulement | | | | |

(*) Significatif à 5 p. 100.
(**) Significatif à 1 p. 100.

des fourrages à la condition de respecter certaines normes et de suivre un plan de travail préalablement bien établi.

Les proportions des différents constituants dosés ne sont pas reportées ici car les échantillons que nous avons analysés ne représentent qu'une fraction d'essais importants en cours et dont l'interprétation sera donnée au cours d'articles ultérieurs.

*Reçu pour publication en février 1977.*

## Remerciements

Nous remercions M. GILLET de nous avoir autorisé à prélever dans les essais dont il a la responsabilité les échantillons qui nous ont permis de réaliser cette étude.

## Summary

*Influence of drying conditions on evaluation of soluble nitrogen and soluble carbohydrate content of forages. Consequences for trial harvesting*

Gathering fresh forage samples in the field sets difficult problems when the subsequent analysis is intended to evaluate components corresponding to intermediate stages of metabolism (soluble organic nitrogen, $NO_3$ nitrogen, soluble carbohydrates). Usual techniques such as cryodessication, soaking in some solutions (boiling alcohol f.e.) cannot be used owing to the volume and the large number of samples, as also the distance between the field and the laboratory. At the Forage Plant Breeding Station of Lusignan we use hot-hair drying in ovens. Our purpose was to determine to what extent, setting and working differences between ovens and also the delay between cutting and drying way influence data on nitrogen and carbohydrate content.

*Preliminary experiment*

*Material :*

Tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb) variety « Ludelle », cut of the 25th October 1975 at a vegetative stage. The 500 g green matter samples came from 4 treatments, differing in nitrogen fertilization and management (Table 1).

*Results :*

Soluble carbohydrates and soluble organic nitrogen contents are more dependent on drying conditions (especially if the drying oven has been heated or not before putting the samples in it) then on the time between cutting and drying (Fig. 1). When the oven has been heated (80 °C) previously (Fig. 2), the curves of evolution of contents according with the time are more regular.

For soluble nitrogen when the drying-oven is already at 80 °C when forage samples are placed in it, the ratio of the variance of treatment to the variance of time is 18,38 and when the initial temperature is 20 °C, this ratio is 0,92. For carbohydrates these ratios are respectively 37.07 and 13.43.

*Main experiment*

*Material :*

Tall fescue (*Festuca arundinacea* Schr.) variety « Ludelle », cut of the 6th of May 1976. Four ways of N manuring, differing in rate and time of application have given the following total amounts:

- $N_1$ : 30 kg/ha of nitrogen in autumn + 30 kg/ha the 1st March — total 60 kg/ha
- $N_2$ : 30 kg/ha of nitrogen in autumn + 150 kg/ha the 1st March — total 180 kg/ha
- $N_3$ : 150 kg/ha of nitrogen in autumn + 30 kg/ha the 1st March — total 180 kg/ha
- $N_4$ : 210 kg/ha of nitrogen in autumn + 150 kg/ha the 1st March — total 360 kg/ha

*Results :*

All the drying ovens were heated (80 °C) before the cut. Nevertheless for a same sample, dryied at the same time, there is a significant effect of the oven on soluble organic nitrogen content (tables 3 and 4). But the time before drying has a highly significant effect on contents when it exceeds 4,30 h. Three, the interactions with treatments are also significant (influence of « nutritional history ») (Fig. 4 and 5).

*Discussion - Conclusion*

It seems necessary to put the samples less than 4.30 h after cutting in a previously heated oven. It is better to gather only a part of the trial according to the capacity of ovens, than to gather all at once, and have a lot of samples waiting for vacant room a long time.

The working of the ovens must be particularly overseen, and as far as possible, samples of a same replication placed in the same oven.

It does not seem necessary to get complex equipement to carry out precise studies on the evolution and variation of forage quality provided one has regard for important rules and follows a definite card-out planning.

## Références bibliographiques

MAC RAE J. C., 1970. Changes in chemical eomposition of freeze-stored herbage, *N. Z. J. agric. Res.*, **13**, 45-50.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (4), 477-481.

# Amélioration de l'efficacité des schémas de sélection récurrente

A. GALLAIS

*Station d'Amélioration des Plantes fourragères,*
*86600 Lusignan*

## Résumé

Que le but de l'amélioration des populations allogames soit la création de variétés synthétiques ou la création de variétés hybrides, il apparaît qu'il est plus efficace de sélectionner à la fois sur la valeur en autofécondation et sur la valeur en croisement. Dans le premier cas cela contribue à améliorer l'aptitude à la synthèse et dans le second cas il en résulte une amélioration de la valeur commerciale de la variété. Il est donc proposé d'introduire la valeur en autofécondation dans tous les schémas de sélection récurrente, et de la combiner à la valeur en croisement selon un index.

L'amélioration des populations par sélection récurrente est ou devrait être un des axes essentiels de l'amélioration des plantes en vue de la création de variétés (GALLAIS, 1974 b, 1977). Le choix d'une méthode doit dépendre des effets génétiques, du but poursuivi et en particulier du type de variétés à créer. C'est la nature du critère de la valeur des unités génétiques à sélectionner qui est à déterminer en fonction de ces éléments.

Si l'on tient surtout compte du type de variétés à créer, pour des *variétés hybrides*, il faut améliorer *l'aptitude à la combinaison* et pour des *variétés synthétiques*, il faut améliorer *l'aptitude à la synthèse* (GALLAIS 1973 b, 1974 a, b).

L'aptitude à la synthèse d'un génotype est sa performance moyenne en combinaisons « synthétiques » à nombre de parents donné. Elle peut se relier génétiquement, ou statistiquement à sa valeur générale en combinaison et à sa valeur en autofécondation (GALLAIS, 1974 a, b, 1975; WRIGHT, 1973, 1974). Ainsi une des meilleures façons d'améliorer une population pour la création de variétés synthétiques est d'utiliser un index de la valeur en autofécondation et de la valeur en combinaison.

En vue de la création de variétés hybrides, certes, le critère essentiel doit être la valeur en combinaison, mais, il est aussi très important d'obtenir des lignées homozygotes assez vigoureuses, pour une production économique d'hybrides simples. Ainsi, chez le Maïs, la production d'hybrides doubles ou d'hybrides trois

voies a souvent été choisie pour des raisons économiques, alors que génétiquement en moyenne elle ne permet pas une aussi bonne utilisation de l'hétérosis que l'hybride simple, bien qu'il puisse y avoir des exceptions signalées par SCHNELL (1973, 1975) et nous-mêmes (GALLAIS, 1973 b).

Que le but de l'amélioration des populations soit la création de variétés hybrides ou de variétés synthétiques, il apparaît qu'il faudrait sélectionner à la fois sur la valeur en autofécondation et la valeur en croisement. Cette remarque concerne donc l'ensemble des plantes allogames où l'autofécondation est possible. D'ailleurs si celle-ci n'est pas possible, elle pourrait être remplacée par un système de reproduction en consanguinité moins intense (frère × sœur ou parent × enfant par exemple). Enfin, dans la mesure où même chez les autogames parallèlement à l'amélioration de la valeur propre des lignées, on cherche aussi une certaine utilisation de l'hétérosis, c'est bien l'ensemble de toutes les plantes améliorées qui peut être concerné par notre remarque.

Comme nous l'avons déjà suggéré (GALLAIS, 1975, 1977), le critère de valeur en autofécondation peut alors être introduit dans de nombreux schémas de sélection récurrente. Nous proposons son introduction dans les méthodes suivantes :

— *Sélection récurrente intra-population*

*Individuelle*

- phénotypique (sélection massale)
- sur descendance
  - demi-frères en top cross (Aptitude Générale à la Combinaison : A.G.C.)
  - pleins-frères.

*Familiale*

- familles de demi-frères
- familles de pleins-frères

— *Sélection récurrente réciproque*

- avec familles de demi-frères
- avec familles de pleins-frères

Cette introduction ne peut évidemment être réalisée que chez les plantes prolifiques, ayant au moins deux inflorescences femelles.

L'objectif est de progresser à la fois sur la valeur en autofécondation et la valeur en croisement. On peut envisager une sélection par index de la forme :

$$I_i = a_1 S_i + a_2 C_i^*$$

$S_i$ représentant la valeur en autofécondation de l'individu $i$ et $C_i^*$ la valeur de cet individu selon le critère de test de la valeur en croisement propre à chaque méthode (phénotype, A.G.C.... etc); $a_1$ et $a_2$ peuvent être considérés comme des coefficients de pondération économique.

Le problème est de déterminer ces coefficients. Dans le cas de variétés synthétiques, il faut maximiser la corrélation avec la valeur en synthèse (GALLAIS, 1975), il y a donc une base génétique et statistique pour déterminer ces cœfficients. Par contre, en vue de la création de variétés hybrides, la pondération doit avoir une base économique. Dans ce cas, pour réaliser une approche rationnelle, il faudrait tenir compte du coût de production de l'hybride et du progrès économique qu'il

apportera. Une approche plus simple peut consister à se fixer un progrès génétique sur la valeur en autofécondation et la valeur en croisement, selon la méthode des « gains désirés » introduite par PESEK (1969, 1970) (voir aussi ROUVIER (1969) et GALLAIS (1973 a)).

La sélection par niveaux indépendants sera encore la plus simple à réaliser. Pour des coefficients « économiques » connus, elle ne conduira pas au progrès maximal possible, mais dans une telle situation (en vue de la création de variétés hybrides) cela ne semble pas important, l'essentiel est de progresser sur les deux caractères. Une erreur de pondération ne serait pas trop grave : la sélection pour la valeur en autofécondation entraînant une réponse corrélative de la valeur en croisement et réciproquement. Cependant cette remarque n'est valable que si la corrélation entre les deux caractères est assez forte; ce ne sera pas en général le cas en début de sélection chez des espèces allogames encore peu sélectionnées.

L'utilisation d'un index ou de la sélection par niveaux indépendants peut d'ailleurs dépendre de la méthode de sélection. Dans le cas de test sur descendance ou de sélection familiale, la valeur en autofécondation peut s'apprécier en même temps que la valeur en croisement; un index peut donc être utilisé. Dans le cas d'une sélection massale, cela est aussi possible pour des plantes pérennes ou à multiplication végétative en étudiant la même année les plantes pour leur phénotype et leur valeur en autofécondation. Par contre pour des plantes annuelles, la sélection se fera en deux étapes, d'abord sur le phénotype, et l'année suivante sur la valeur en autofécondation : il s'agira alors d'une sélection par niveaux indépendants.

L'introduction de la valeur en autofécondation dans la sélection récurrente réciproque (fig. 1) semble valoriser cette méthode. En effet, des expériences de sélection sur Maïs (MOLL *et al.*, 1967, 1971) semblent montrer qu'à court terme, la sélection récurrente réciproque sur familles de demi-frères n'est pas plus efficace qu'une sélection récurrente intrapopulation, or, elle demande deux fois plus de moyens. Par contre, à long terme, elle permettrait une meilleure utilisation de l'hétérosis; cela peut être en partie dû au fait que l'on maintient deux populations au lieu d'une.

L'introduction de la valeur en autofécondation conduira alors à une amélioration simultanée des deux populations en même temps que l'amélioration de leur valeur en combinaison. Par rapport à la méthode classique, il y aura donc une meilleure utilisation des moyens, et par rapport à deux sélections intra-population sur la valeur en autofécondation et la valeur en croisement, elle doit permettre, au moins à long terme, une meilleure utilisation de l'hétérosis. Un tel schéma peut aussi se justifier en vue de la création de variétés synthétiques. D'ailleurs dans ce cas, un troisième critère devrait être ajouté, la valeur en croisement intra-population ( GALLAIS, 1975). Et pourquoi ne pas aussi envisager la combinaison de ces trois critères, en vue de la création de variétés hybrides? Le problème est alors à envisager en termes de progrès génétique, voire économique, par rapport au coût de la sélection.

L'optimisation des moyens est un problème important à résoudre pour toute méthode de sélection. Dans le cas particulier envisagé ici d'introduction de tests de valeur en autofécondation, par exemple dans une sélection sur l'aptitude générale à la combinaison en vue de la création de variétés synthétiques, au lieu de consacrer 4 répétitions aux tests d'aptitude à la combinaison, il peut être plus efficace de n'en consacrer que 2, les 2 autres étant utilisées pour l'étude de la valeur en autofécondation. Dans le cas de variétés hybrides, le problème bien que moins direct peut se poser dans des termes analogues.

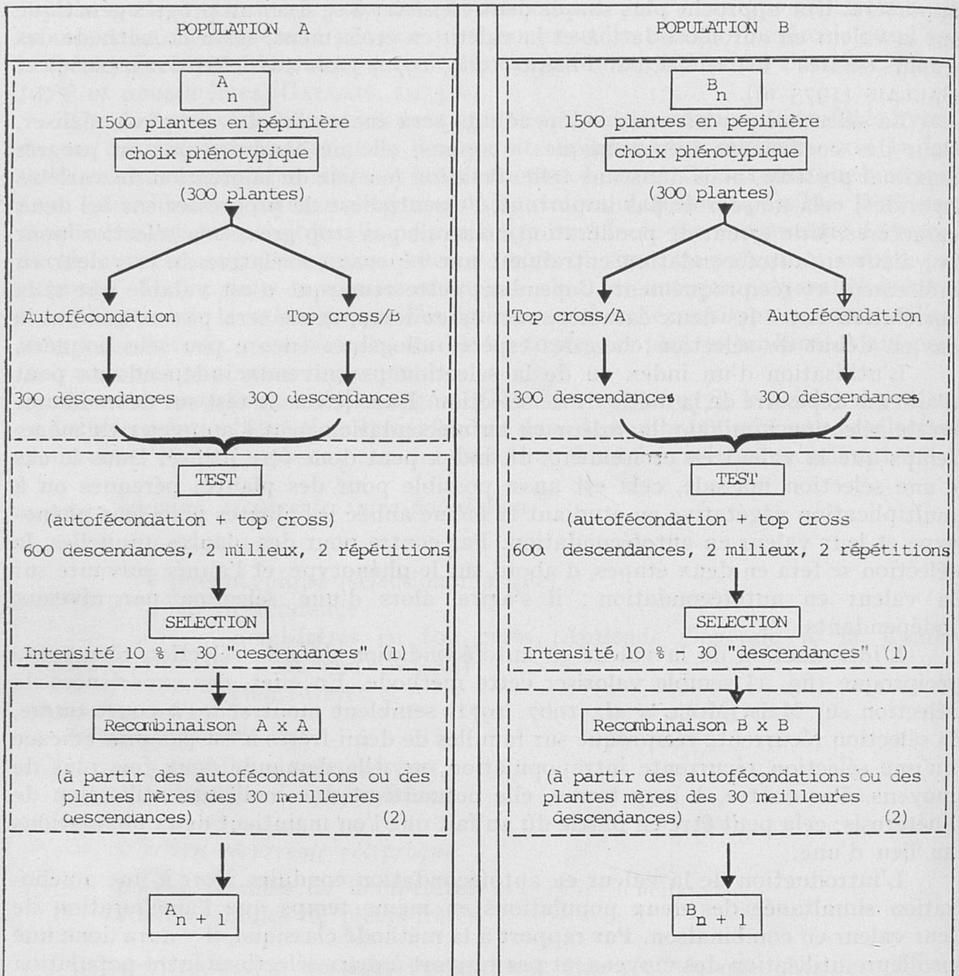



FIG. 1. — *Exemple d'application d'une sélection récurrente réciproque combinée avec une sélection intra-population sur la valeur en autofécondation*

(1) En tenant compte à la fois de la valeur en autofécondation et de la valeur en top cross.
(2) Quand cela est possible, il est préférable de répartir des plantes mères, surtout pour une espèce autopolyploïde, et réaliser si possible 2 cycles d'intercroisement.

L'introduction de la valeur en autofécondation ne nécessitera donc pas obligatoirement des moyens supplémentaires, elle conduit plutôt à les répartir différemment pour avoir un progrès génétique plus important sur la valeur des variétés qu'il sera possible de tirer des populations améliorées. Dans le cas de variétés synthétiques, il en résultera surtout une amélioration de leur valeur agronomique; dans le cas de variétés hybrides, le progrès portera sur leur valeur propre et leur valeur commerciale.

D'une façon plus générale, il ne suffit pas d'améliorer la valeur agronomique d'une variété, il faut aussi se soucier de sa valeur commerciale (facilité de maintien,

coût de production...). Une sélection récurrente utilisant un index des différents caractères économiquement importants, associés les uns aux descendances en autofécondation, les autres aux descendances en croisement, ou aux deux types de descendances à la fois, semble très bien adaptée pour améliorer l'aptitude d'une population à donner de « bons » parents pour une variété.

*Reçu pour publication en avril 1977.*

## Summary

*Improvement of efficiency of recurrent selection methods*

Wathever the aim of population improvement in cross-fertilized plants, development of synthetics or hybrids, it appears that it is more efficient to breed simultaneously for the value under self-fertilization ($S_1$ value) and for the combining ability. For synthetics it results in an improvement of the varietal or synthetising ability and for hybrids in an improvement of the commercial value. We suggested to introduce $S_1$ value test in all recurrent selection schemes and to combine it with combining ability according to a suitable index.

## Références bibliographiques

GALLAIS A., 1973*a*. Sélection pour plusieurs caractères. Synthèse critique et généralisation. *Ann. Amélior. Plantes*, **23**, 183-208.

GALLAIS A., 1973*b*. Some factors affecting the strategy of breeding for yield in cross fertilized plants. *Proc.* 1st *Meeting of the Section Eucarpia « Biometrics in Plant Breeding »*. Hannover 20-22 Feb. 1973. H. Rundfeldt and G. Wricke (Ed.), p. 9-19.

GALLAIS A., 1974*a*. Prediction of vigour and choice of parents for a synthetic variety. Application to coocksfoot, *Dactylis glomerata* L. 7th *Cong. Eucarpia. « Heterosis in Plant Breeding »*. Budapest, 25-29 juin 1974, Acad. Sci. Budapest. 319-321.

GALLAIS A., 1974 b. La formation des lignées chez les espèces allogames. *Colloque du Département Amélioration des Plantes de l'I.N.R.A. sur la formation des lignées diploïdes. Lusignan* 11-15 *octobre* 1974. *T.D.R.** (à paraître).

GALLAIS A., 1975. Prévision de la vigueur et sélection des parents d'une variété synthétique. *Ann. Amélior. Plantes*, **25**, 233-264.

GALLAIS A., 1977. Amélioration des populations, méthodes de sélection et création de variétés. *Ann. Amélior. Plantes*, **27**, (3), 281-329.

MOLL R. H., ROBINSON H. F., 1967. Quantitative genetic investigation of yield of Maize. *Züchter*, 37, 192-199.

MOLL R. H., STUBER C. W., 1971. Comparison of response to alternative selection procedures initiated with two populations of Maize. *Crop Sci.*, **11**, 706-711.

PESEK J., BAKER R. J., 1969. Desired improvement in relation to selection indices. *Can. J. Plant. Sci.*, **49**, 803-804.

PESEK J., BAKER R. J., 1970. An application of index selection to the improvement of self pollinated species. *Can. J. Plant Sci.*, **50**, 267-276.

ROUVIER R., 1969. *Contribution à l'étude des index de sélection sur plusieurs caractères.* Thèse Doctorat 3e cycle, Fac. Sci. Paris.

SCHNELL F. W., GEIGER H. H., 1973. Possible genetic causes of differences between the mean yields of various types of hybrids. in *Proc. Meeting of Eucarpia Section « Biometrics in Plant Breeding »*. Hannover 20-22 Feb. 1973. Rundfeldt H., Wricke G. (Ed.). p. 5-9.

SCHNELL F. W., 1975. Type of variety and average performance in hybrid maize. *Z. Pflanzenzücht.*, **74**, 177-188.

WRIGHT A. J., 1973. The selection of parents for synthetic varieties of outbreeding diploid crops. *Theor. appl. Genet.*, **43**, 79-82.

WRIGHT A. J., 1974. A genetic theory of general varietal ability for diploid crops. *Theor. appl. Genet.*, **45**, 163-169.

(*) TDR, Bulletin de liaison interne du Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes de l'I.N.R.A., a une circulation restreinte; une copie de l'article cité peut être obtenue en s'adressant au Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes, 11, rue Jean-Nicot, 75007 Paris, ou à l'auteur.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (4), 483-488.

# High production of embryoids in anther culture of pollen derived homozygous spring wheats

E. PICARD and J. de BUYSER

*Laboratoire d'Amélioration des Plantes,*
*Bat.* 360, *Faculté d'Orsay,*
91405 *Orsay*

## Summary

In this short communication, it is demonstrated that microspores coming from three pollen — derived homozygous lines and a $F_1$ — hybrids between two of those lines give better embryogenic responses than the control genotypes. The percentage of embryoid formation with the D.H. progenies are 2 -10 times higher than the control. With a $F_1$ hybrid (D.H. × D.H.) this increase is still better. This new disposition of the doubled haploid seems to be heritable through selfing and outbreeding.

One of the most important questions posed by anther culture and haploid production *in vitro* is the nature of the mechanisms ensuring the good performance of the subsequent doubled haploids. Previously, the homozygous lines have been compared to inbred lines obtained with pedigree methods with reference to such quantitative traits as yield and alkaloid production (LEGG et COLLINS, 1968; Anonyme, 1974; FEDAK, 1976). Pollen-derived plant cells and protoplasts have also been extensively utilized for mutant selection and for regeneration of new haploid plants (BINDING, 1974; MALIGA, MARTON, BREZNOVITS, 1972; THOMAS, 1976).

The obtention of haploids and completely homozygous diploid lines from a haploid anther-derived plant has been described in *Datura metel* (CHANDY et NARAYANASWAMI, 1971). This suggested the possibility of anther culture of the androgenetic homozygotes of wheat produced *in vitro*; we report here the results we obtained.

For the experiments, anthers of spring wheats (*Triticum aestivum* L.) were used from the following genotypes: cv « Cesar » and « Atys » are two normal self-pollinated cultivars of spring wheat, $F_1$ (680-2) is an $F_1$ hybrid and three homozygous androgenetic lines which were obtained from the above three genotypes

through anther culture. These doubled haploids were self-pollinated three or four times and they are denoted as:

— DH (Cesar)$g_4$ = doubled haploid from cv « Cesar » at the fourth generation of selfing.

— DH (Atys)$g_3$ = the same for « Atys » in the third generation and

— DH ($F_1$ 680-2)$g_3$ = denotes the third genotype used in the third generation.

We also used anthers of an $F_1$ hybrid from two homozygous lines :

$F_1$ (DH Cesar) $g_3$ × DH ($F_1$ 680-2)$g_2$).

Spikes are collected in the greenhouse and prior to implanting we work out the morphological reference, R, for each of these, where :

$$R = \frac{\text{length of the spike} + \text{length of the last internode}}{\text{length of the sheath}}$$

The value of « R » is characteristic for the different stages of male gametogenesis and for different positions along the spike. Once collected the spikes are left in their sheaths at 3 °C for two to eight days (PICARD et BUYSER, 1975): whereupon they are briefly sterilised with calcium hypochloride. They are then aseptically dissected and the anthers are inoculated onto two different solid media.

Medium M1 has the following composition : Miller's major and minor nutrients, Fiji's vitamins, $10^{-4}$M Iron-EDTA, $10^{-5}$M 2-4D, 120*g*/*l* sucrose and 10*g*/*l* Bacto Difco Agar; the *pH* is adjusted to *pH* 5.9 before autoclaving. Medium M2 is identical to the above with the exceptions that Miller's nutrients are diluted 1/3 and potato extract, which has been reported to have a favourable effect on wheat anther culture (anonyme, 1976), is added. The latter is prepared by chopping 200 g of tubers and boiling them for 30 minutes.

Once calluses or multicellular formations are formed, they are transferred to medium M3 to effect differentiation into plantlets. This medium is similar to M1 but 2-4D is replaced by 0,5 × $10^{-5}$M IAA and the sucrose concentration is reduced to 20 g/l.

The results, in Table 1, show that the pollen-derived homozygotes and one of their hybrids are more productive than normal cultivars or normal hybrids. Thus, DH (Atys) $g^3$ yields 2.3 times more embryoids than does cv « Atys » (columns 1 and 2). DH (Cesar) $g_4$ forms embryoids with a frequency 6.5 times higher than that of cv « Cesar » (Columns III and IV). The morphological states (R) of the spikes of the latter two genotypes have been compared (fig. 1). It can be seen that DH (Cesar) $g_4$ exhibits an increased embryogenic potential compared to « Cesar ». The parallel nature of the two curves is striking. Moreover, this curve shows the ease with which the best morphological state of the spikes of wheat can be defined. Subsequent experiments (columns IV, V and VII) were performed only with the anthers from the most embryogenic ears. When the fourth and seventh colums are compared, we again see a difference between cv « Cesar » and its doubled haploid, the latter showing an approximately seven-fold increase. With the potato medium M2, cv « Cesar » performs slightly better than in medium M1 (columns IV and V), but the increase as noted by us is not as significant as the previously reported (anonyme, 1976).

When the responses *in vitro* of an experimental hybrid and a homozygous line are compared, we again see that the latter exhibits a marked advantage, yielding approximately 9.5 times more embryoids (Table 1, colums VIII and IV).

TABLE 1

| Génotypes | I cv « Atys » | II « Atys » $g^3$ | III cv « Cesar » | IV cv « Cesar » (a) | V cv «Cesar»(a) | VI DH(Cesar $g^4$ | VII DH(Cesar) $g^4$(a) | VIII F1 (680.2) | IX DH (F1 680.2) $g^3$ | X DH (Ces) × DH(F1 680.2) | XI DH(Cesar) × DH(F1 680.2) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Culture medium | M1 | M1 | M1 | M1 | M2 | M1 | M1 | M1 | M1 | M1 | M2 |
| Number of cultured anthers (1) . . . . | 3 392 | 2 844 | 11 256 | 1 092 | 1 014 | 9 360 | 966 | 1 929 | 168 | 378 | 672 |
| Number of multicellular formations (embryoids or callus (2) | 25 | 49 | 40 | 13 | 21 | 222 | 88 | 35 | 29 | 62 | 237 |
| Percentage of mult. formations $\left(\frac{2}{1}\right)$ (p. 100) | 0,74 | 1,72 | 0,36 | 1,19 | 2,07 | 2,37 | 9,10 | 1,81 | 17,26 | 16,40 | 35,27 |
| Number of embryogenic anthers (3) . | 21 | 27 | 36 | 10 | 10 | 123 | 43 | 27 | 9 | 28 | 70 |
| Percentage of embryogenic anthers . . . $\left(\frac{3}{1}\right)$ (p. 100) | 0,66 | 0,95 | 0,32 | 0,92 | 0,99 | 1,31 | 4,45 | 1,40 | 5,36 | 7,41 | 10,42 |
| Average number of mult. formations by embryogenic anthers | 1,19 | 1,81 | 1,11 | 1,3 | 2,1 | 1,8 | 2,0 | 1,30 | 3,22 | 2,2 | 3,38 |
| Percentage of formations giving chlorophyllian plantlets | 24 | 56,10 | 5 | 7,65 | 4,7 % | 15,32 | 11,35 | 5,7 | 0 | 0 | 0 |

(a) Experiment with accurate choice of the ear.
Col. I, III, IV, V, VIII : normal genotypes. Col. II, VI, VII, IX, X, XI : doubled haploids.

It is obvious that the comparison is difficult to make here, but we have noticed that under our anther culture conditions, the hybrids generally give the highest percentages of haploid calluses, *i.e.* 3 to 6 times more than cultivars.

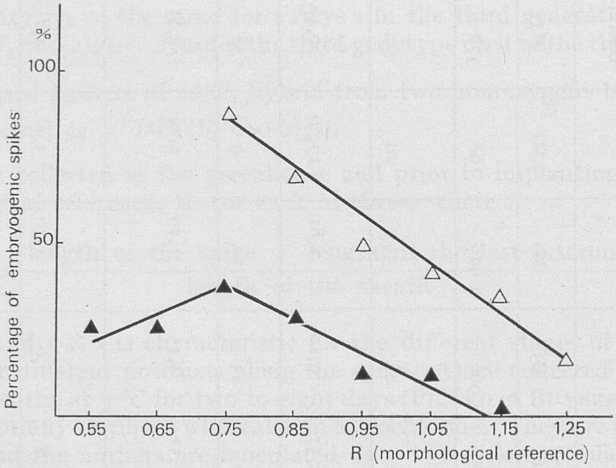



FIG. 1. — *Increase embryogenic potential of the ears of a doubled haploid of Cesar (DH (Cesar) g4) in comparison with cv « Cesar »*

▲ cv « Cesar » △ DH (Cesar) g4.

Finally, we performed crosses between two doubled haploids in order to determine if this high embryogenic potential was heritable. The results, in fact, (columns X and XI) show that very good results are obtained with this DH hybrid: 16.4 p. 100 on medium $M_1$ and 35.2 p. 100 on medium M2. The results of Colum XI are plotted in fig. 2 as a function of the anther position on the spikes; the curve exhibits two peaks.

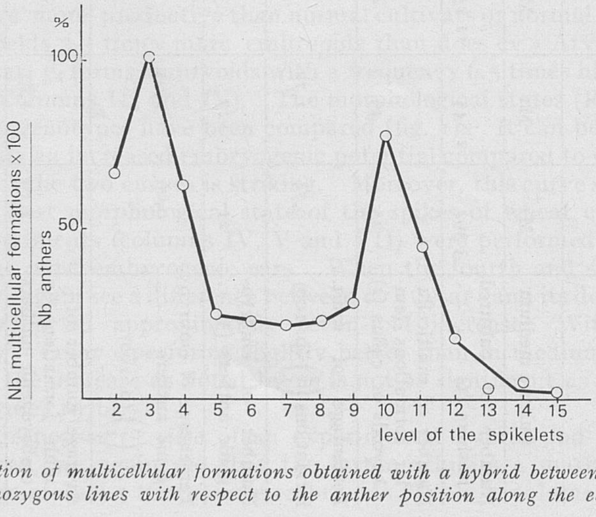



FIG. 2. — *Repartition of multicellular formations obtained with a hybrid between two androgenetic homozygous lines with respect to the anther position along the ear.*

If we group the results obtained with spikelets 2, 3, 4, 9, 10 (6 anthers inoculated per spikelet), 196 multicellular formations were obtained from 213 anthers, *i.e.* an average of 62.8 p. 100.

Similarly, it appears that embryoids arising from the doubled haploids can yield 2 to 3 times more green plantlets than normal control genotypes (Table 1: col. I to VII). However, with DH (680-2) $g_3$ (col. IX) and the hybrid involving this genotype (col. I to VII). However, with DH (680-2) $g_3$ (col. IV) and the hybrid involving this genotype (col. X, XI) we only obtained albino plantlets.

The above results are rather conclusive in demonstrating that the response of anther-derived doubled haploids *in vitro* is better than that of the normal genotypes. This difference does not appear to be solely related to the pure homozygous state since there is also an increase in their hybrids. An hypothesis to be advanced is that there is a selection *in vitro* of a favourable set of factors. This new disposition of the doubled haploid is heritable through selfing and out-breeding. The implications of such results are extremely interesting for genetic application and especially for plant breeding.

*Reçu pour publication en mai 1977.*

## Acknowledgements

The authors thank Doctor Professor Y. DEMARLY for his research direction, critical discussion and reading the manuscript. They also thank Mrs F. CORAIL for technical assistance.

## Résumé

*Obtention de hautes fréquences d'embryoïdes à partir de cultures* in vitro *d'anthères d'haploïdes doublés de Blé tendre*

Dans cette note nous montrons que les microspores de trois lignées homozygotes (multipliées par autofécondation), provenant de culture *in vitro* d'anthères et d'un hybride entre deux de ces lignées homozygotes, manifestent une meilleure aptitude à l'embryogenèse que les génotypes dont ils sont issus. Les pourcentages d'embryoïdes obtenus à partir de ces haploides doublés sont de deux à dix fois supérieurs à ceux relevés chez les témoins. Chez l'hybride (haploïde doublé × haploïde doublé) les rendements sont encore plus élevés. Ce phénomène semblerait se comporter comme un caractère transmissible à la fois en croisement et en autofécondation.

## References

ANONYME, 1974. Investigation of the induction and genetic expression of Rice pollen plants. *Scientia Sinica*, **17**, 209-222.

ANONYME, 1976. A sharp increase of the frequency of pollen-plant-induction in wheat with potato medium. (chin.) *Acta Genetica Sinica*, **3**, 25-31.

BINDING H., 1974. Cell cluster formation by leaf protoplasts from axenic cultures of haploid *Petunia Hybrida* L. *Plant Science Letters*, **2**, 185-188.

CHANDY L. P. and NARAYANASWAMY S., 1971. Diploid and haploid androgenic plantlets from haploid *Datura in vitro*. *Ind. J. exp. Biol.*, **9**, 472-475.

FEDAK G. 1976. Evaluation of doubled haploid in Barley. *Z. Pflanzenzüchtg.*, **76**, 147-151.

LEGG P. D. and COLLINS G. B., 1968. Variation in selfed progeny of doubled haploid stocks of *Nicotiana tabacum* L. *Crop Sci*, **8**, 620-621.

MALIGA *et al.* 1972. Streptomycin resistant plants from callus culture of haploid tobacco. *Nature New Biol.*, **244**, 29-30.
PICARD E. et de BUYSER J., 1975. Nouveaux résultats concernant la culture d'anthères *in vitro* de blé tendre (*Triticum aestivum L.*). Effets d'un choc thermique et de la position de l'anthère dans l'épi. *C. R. Acad. Sci.*, **281** Série D, 127-130.
THOMAS E. *et al.*, 1976. Protoplast regeneration and stem embryogenesis of haploid androgenetic rape. *Mol. gen. Genet.*, **145**, 245-247.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (4), 489-491.

# A case of genetic assimilation : selection through androgenesis or parthenogenesis of haploid producing systems (an hypothesis)

M. RIVES and E. PICARD *

*Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A.*
*11, rue Jean-Nicot, 75007 Paris*

* *Laboratoire d'Amélioration des Plantes,*
*Bat. 360, Faculté d'Orsay, 91405 Orsay*

## Summary

The frequency of abnormal pollen grains with non-stratified cytoplasm that yield haploid in androgenesis in wheat, was found to be significantly higher in doubled haploids as in the original parent. This trait is inherited.

The authors assume that the mecanism that controls this trait is related to within-strand recombination in the regulatory zones close to responsible structure genes according to CRICK's (1971) and KASS and WALLACE's (1974) models. They think this is an instance of WADDINGTON's (1961-1969) genetic assimilation.

---

It has been reported (PICARD and de BUYSER, 1975) on obtaining fertile diploid wheat plants through the doubling of the chromosome number of haploids from anther culture.

Some of the microspores that will eventually divide and proceed through the callus and for the embryogenetic chreod would be of an abnormal type. In the microspores the normal stratification of the cytoplasm, in which most of the cell organites are concentrated towards the future vegetative pole would not occur or be less marked. After cold treatment or trauma, this phenomenon can be emphasised : the first division of the microspores takes place in the direction orthogonal to the usual one, thus yielding two cells that are equal.

The interesting observation made is that in the microspores of the doubled haploid progeny plants, the frequency of these non-stratified microspores is much higher. In some cases they have supernumerary nuclei (de BUYSER and PICARD, 1975). In the same way, the frequency of success in obtaining haploids from anther culture is considerably increased (PICARD and de BUYSER, 1977).

In an independant experiment using a different system, POCHARD (1971, 1974) observed that the frequency of spontaneous haploids found among seedling pro-

genies in *Capsicum annuum*, could be increased through selection of haploids from haploids from $10^{-4}$ to $10^{-2}$ in a few generations.

In both cases a rare but ever-recurring event is found to be heritable.

In wheat, we found that in the $F_1$ of the cross between the original cultivar and a progeny with higher frequency of non-stratified microspores, this frequency laid half-way between those of the parents (PICARD, 1977, unpublished).

In agreement with WADDINGTON's (1961, 1969) theory of genetic assimilation, rare phenotypes that occur spontaneously or as a consequence of unusual treatments can be driven to fixation through selection, as were for instance, his phenocopies of cross-veinless in *Drosophila* following a heat shock.

One must admit that genetic systems preexist, that can repeatedly condition these rare situations, although the phenotypes they control are strongly selected against and even though these situations are very rarely evoked.

A likely explanation is that this occurrence is part of the price that must be paid for maintaining some otherwise usefull mechanism, which occasionally gives rise to these situations.

As wheat and *Capsicum* are self-fertilizers, such a mechanism must be a part of a system which escapes the homozygozification caused by selfing.

This is conspicuously analogous to PANDEY's (1974) residual heterozygosity.

A rare ever-recurring event in zones where residual heterozygosity can survive in a selfed genotype is suggestive of recombination as the responsible process. In this connection WALLACE et KASS's (1974) regulation regions might provide the sites of occurrence. These regions comprise hair-pin-shaped lateral extensions of DNA away from the main axis. They result from the pairing of palindrome sequences of DNA located on both sides of an unpaired loop-forming sequence that works as a recognition site.

Several such « peduncles » or « pedestals » are located side by side and form the regulatory zone, close by a structural gene sequence. WALLACE and KASS assumed that crossing over and recombination can occur between the palindrome sequences of different pedestals: this leads to a variety of situations such as interversions of pedestals, deletions, duplications and translocations, that may explain variations in regulatory activity.

A further assumption states that the sites at the top of the pedestals are tested for recognition in sequence by regulator proteins from the distal end relative to the structural gene. Hence the importance of changes in order through recombination.

We then may assume that in wheat such a process occasionally leads to a configuration of recognition sites that controls the following of the normal (*i.e.* non-stratified) chreode in the cell that was to follow the usual (abnormal) stratified-cell chreode leading to the pollen-grain or in *Capsicum* to the events that lead to the evolution of one of the nuclei resulting from the female meiosis into an embryo in the absence of fertilization.

Our hypothesis will state that the new configuration of the regulatory region responsible for this is preserved in the progeny, its reversal being as rare as its initial occurrence, and the progeny being homozygous for it.

This would explain the quick and strong response to the first cycle(s) of selection.

*Reçu pour publication en juin 1977.*

## Résumé

*Un cas d'assimilation génétique: sélection par androgenèse ou parthénogenèse de systèmes produisant plus d'haploïdes (hypothèse).*

La fréquence des grains de pollen « anormaux » à cytoplasme non stratifié, qui sont à l'origine des haploïdes obtenus chez le blé par androgenèse est très nettement plus élevée chez les haploïdes doublés ainsi obtenus. Ce trait est héritable.

Les auteurs font l'hypothèse que le mécanisme de contrôle de ce trait résulte de recombinaisons internes dans les zones de régulation de l'activité des gènes de structure responsables suivant les modèles de CRICK (1971) et KASS et WALLACE (1974) en le rapprochant du phénomène « d'assimilation génétique » de WADDINGTON (1961, 1969).

## References

BUYSER J. de, PICARD E., 1975. Observation de divisions supplémentaires dans les grains de pollen de plantes homozygotes de blé tendre (*Tricium aestivum L.*) obtenues par androgenèse *in vitro*. *C. R. Acad. Sci., Ser. D.* **281**, 1153-1156,

PANDEY K. K., 1974. Elimination of heterozygosity and efficiency of genetic systems *Theor. appl. Genet.*, **44**, 199-205.

PICARD E. et BUYSER J. de, 1975. Nouveaux résultats concernant la culture d'anthères de *Triticum aetivum* L. — Conditions de régénération des plantes haploïdes et production de lignées entièrement homozygotes. *C. R. Acad. Sci, Sér. D*, **281**, 989-992.

PICARD E. et BUYSER J. de, 1977. High production of embryoids in anther culture of pollen derived homozygous spring wheats. *Ann. Amélior. Plantes*, 27 (4), 483-488.

POCHARD E. et DUMAS DE VAULX R., 1971. La monoploïdie chez le piment (*Capsicum annuum* L.). *Z. Pflanzenzücht*, **65**, 23-46.

POCHARD E. et DUMAS DE VAULX R., 1974. La parthenogenèse haploïde dans la sélection du piment. *Eucarpia Capsicum Meeting*, Budapest 1974.

WADDINGTON C. H., 1961. Genetic assimilation. *Adv. Genet.*, **10**, 257-293.

WADDINGTON C. H., 1969. Form and information « Towards a theoretical biology » **4** Essays Edimb. Univ. Press.

WALLACE B. et KASS T. L., 1974. On the structure of gene control regions. *Genetics*, **77**, 541-558.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (4), 493.

# Informations

## PRIX ASSINSEL

L'Association Internationale des Sélectionneurs pour la Protection des Obtentions Végétales (ASSINSEL) a décidé le 27 mai 1977 à Monterey, Calif., U.S.A., de créer un Prix se montant à SFr. 5 000 — pour des travaux de recherches effectués dans le domaine de l'obtention variétale. Le Prix doit être attribué à des scientifiques, qui par leurs travaux fondamentaux de ces quatre dernières années, ont considérablement contribué à améliorer les méthodes d'obtention. Tout travail d'obtention ou résultat d'obtention proprement dit ne sera primé en aucun cas.

Le Prix ASSINSEL sera attribué pour la première fois en mai 1978, à l'occasion de l'Assemblée générale de l'ASSINSEL, à Hambourg, Rép. fédérale d'Allemagne.

Toute publication concernée peut être adressée à :

ASSINSEL
Poststrasse, 10
CH - 4500, *Soleure*
Suisse

par les auteurs, les instituts scientifiques de recherches ou des membres de l'ASSINSEL, jusqu'au 1er décembre 1977, dernier délai.

La décision du travail à primer reviendra à un jury international composé de trois scientifiques. Leur décision est irrévocable.

Pour le Comité du PRIX ASSINSEL,

Le Président :

Ir. J. E. VELDHUYGEN VAN ZANTEN.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (4), 495.

## Chronique des livres

---

### LES BOCAGES : HISTOIRE, ÉCOLOGIE, ÉCONOMIE

### Comptes rendus du Colloque international C.N.R.S. — 5, 6 et 7 juillet 1976 Rennes

Nécessaires à la modernisation de l'agriculture, d'importantes opérations de remembrement sont conduites en France depuis une trentaine d'années. D'abord réalisées dans les régions ouvertes du Bassin parisien et du Nord, elles se sont étendues aux zones de bocage de l'Ouest de la France où leur mise en œuvre a souvent entraîné la destruction de haies et de talus. Il s'en est suivi de profondes modifications du paysage, parfois même, la disparition totale de l'aspect bocager; de vives protestations se sont élevées et de sérieuses réserves ont été exprimées sur les conséquences de la destruction des haies et des talus : ruptures des équilibres biologiques, altérations du climat, des conditions hydrologiques, etc. Or il est très vite apparu que le milieu bocager était mal connu, que l'on savait peu de choses sur son fonctionnement et qu'il était, par conséquent, très difficile d'estimer les conséquences réelles de sa transformation.

C'est pourquoi, un important programme de recherches a été entrepris en 1970 par l'Institut national de la Recherche agronomique (I.N.R.A.) et l'Université de Rennes. Les premiers résultats obtenus ont été présentés en juillet 1976, lors d'une réunion scientifique internationale qui a permis de faire le point des connaissances acquises sur les milieux bocagers d'Allemagne, de Belgique, du Danemark, de France, de Grande-Bretagne, etc. par les chercheurs de ces différents pays.

Les comptes rendus de cette réunion patronnée par le Centre national de la Recherche scientifique (C.N.R.S.) sont publiés par l'I.N.R.A. dans un volume de 590 pages qui regroupe les textes de 10 rapports de synthèse et de 70 communications.

Les principaux sujets traités sont les suivants :

— Histoire et géographie des bocages;
— Climat, hydrologie, pédologie des régions bocagères;
— Faune et flore;
— Influence du bocage sur les cultures et leurs équilibres biologiques;
— Aspects économiques;
— Méthodes d'étude des bocages.

En vente : I.N.R.A., Laboratoire de Zoologie, E.N.S.A.

65, rue de St-Brieuc, 35042 Rennes Cedex. — Tél. : (99) 59-04-68 ou 59-02-40

---

# RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 29,7, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles *séparées* seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

*Au début de chaque mémoire,* on indiquera : — *le titre courant* pour les hauts de pages devra être fourni en 40 signes au maximum; — *le titre du mémoire :* il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes); — *le nom des auteurs,* précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de...; — *le nom de l'établissement,* dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

*Les mémoires* seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :
a) *résumé* (250 mots max.) suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé,* en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences; d) *résultats,* à présenter de la manière la plus brève possible; e) *discussion et conclusion;* f) *titre et résumé* en anglais ou destinés à être traduits en anglais comportant une analyse *complète* de l'article; g) *remerciements* pour les collaborateurs, les fonds, les dons..., h) *références bibliographiques.*

*Les travaux originaux en anglais* doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français *très complet.* Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

*Pour les autres documents* (notes, mises au point, revues, rapports, etc.) l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

*Les références bibliographiques* doivent être citées dans le texte de la manière suivante (DUPONT et DUVAL, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier auteur sera mentionné, suivi de *et al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

*Pour les articles :* le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivis (s) des initiales du (des) prénom (s); la date de parution de l'article; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues menntionnées); le titre du périodique en abrégé, selon la *World List of Scientific Periodicals,* ou le *Bulletin Signalétique du C. N. R. S.;* le volume; la première et la dernière page de l'article.

*Pour les ouvrages :* le nom de l'auteur avec les initiales du prénom; la date de l'édition; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine); le volume; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs; le nom de l'éditeur; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d' « Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

*Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part.* Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux. *Il est demandé aux auteurs de bien vouloir fournir une traduction* anglaise *des titres et contenus des tableaux, figures, illustrations etc.*

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

*Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils* seront envoyés soit *à l'état définitif* soit *à l'état de projets,* leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I. N. R. A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : *soit* × 0,5, *soit* × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des *Annales* est : 12,5 × 19 cm; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

*Photographies :* Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos : 9 × 12; 4 photos : 9 × 5,5; 6 photos : 5,5 × 5,5. Dans ce cas chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Il est demandé d'indiquer sur le manuscrit, dans la marge, en regard du texte, l'emplacement souhaité des tableaux et figures.

*Envoi du manuscrit :* M. RIVES; I.N.R.A., 4, rue Jean-Nicot, 75007 PARIS, France. On demande deux exemplaires (illustrations comprises).

*Correction des épreuves :* les épreuves que les auteurs recevront à corriger sont à retourner, après correction, à : Mme MANDON, CNRA, Route de St-Cyr, 78000 VERSAILLES.

*Le Directeur de la publication* : M.-L. Cagnac

FD Imprimerie Alençonnaise, rue Édouard Belin. 61002 Alençon

*Dépôt légal : 4ᵉ trimestre 1977. Nᵒ d'impression : 84.780*

CPPAP nᵒ 26633

# annales de l'amélioration des plantes

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE
I. N. R. A.
Centre de Recherches de RENNES
STATION D'AMÉLIORATION DES PLANTES
B.P. 29 - 35650 LE RHEU
Tél : (99) 00.71.92

Bimestriel
1977
Vol. 27 - N° 5

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs
et de l'institut national de la Recherche agronomique
à l'exception des résumés

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (5), 497-507.

# L'acclimatation des variétés fruitières

P. CROSSA RAYNAUD

*Station de Recherches d'Arboriculture fruitière,*
*Centre de Recherches de Bordeaux, I.N.R.A.,*
*La Grande Ferrade, 33140 Pont-de-la-Maye*

## Résumé

Lorsqu'on étudie le comportement des variétés fruitières, on constate que beaucoup de vieilles variétés sont strictement inféodées à des milieux particuliers. Par contre, les variétés issues de croisements entre types géographiquement éloignés semblent présenter une acclimatation plus souple.

La sélection naturelle et humaine exercée pendant des générations sur des écotypes d'effectif limité a certainement facilité la formation de linkats et renforcé les liaisons entre eux. Le taux de recombinaison étant faible, les croisements entre variétés parentes ne peuvent que consolider ces liaisons. Les hybrides ainsi obtenus auront toutes les qualités des parents mais également leurs défauts, et notamment une faculté d'acclimatation insuffisante.

Par contre, des croisements entre variétés génétiquement différentes suivis d'autofécondation ou de croisements pyramidaux se traduiront peut-être, dans une première phase, par une diminution de la valeur culturale des hybrides mais, mettant en présence des linkats formés dans des conditions de milieu très différentes, formeront des génotypes composites où de nouvelles qualités pourront s'exprimer.

Les hybridations actuelles ne peuvent guère apporter une amélioration sensible de nos variétés. Seuls, des programmes plus audacieux, faisant appel à une variabilité génétique élargie, peuvent nous permettre de dépasser le stade que nous avons atteint et justifier les sommes qu'on y consacre.

## I. — Introduction

On ne peut manquer d'être frappé par la variabilité des comportements vis-à-vis du milieu qui existe dans les variétés composant une espèce fruitière.

Les espèces Pommier, Poirier, Pêcher, etc..., ont d'étonnantes possibilités d'acclimatation, puisqu'elles sont cultivées aussi bien en Suède et au Canada que dans les oasis du Golfe persique par exemple.

Mais ce ne sont pas du tout les mêmes variétés qui sont utilisées dans ces régions si dissemblables. En fait, si on y regarde de plus près, on constate même que

les variétés anciennes sont en majorité inféodées à des milieux bioclimatiques particuliers.

C'est ainsi que les variétés d'Abricotier de Sfax (Tunisie) de Naples ou du Roussillon, ne produisent convenablement que dans les régions où elles ont été sélectionnées. Les variétés d'Olivier sont souvent strictement inféodées à des micro-climats, comme « Tanche », cultivée uniquement à Nyons, etc.,...

Mais, inversement, il existe des variétés qui montrent une acclimatation étonnante à des conditions de milieu très variées. C'est le cas de l'olive « Picholine », de l'abricot « Canino », de la prune « Stanley », de la pomme « Golden delicious », etc.,...

Ces comportements très divers doivent avoir une origine génétique sur laquelle il importe de réfléchir, car cela pourrait nous inciter à orienter d'une certaine manière notre stratégie d'amélioration des espèces fruitières.

## II. — Origine des plantes cultivées

Les plantes cultivées que nous connaissons ont évidemment une origine qui remonte à la préhistoire.

Les espèces fruitières, constituant, par leur forme pérenne, un cas un peu particulier, nous résumerons d'abord ici ce que nous savons de l'origine des plantes cultivées annuelles.

Sur les espèces sauvages d'origine se sont exercées durant des siècles les pressions de la sélection naturelle et humaine (cueillette et agriculture).

La sélection humaine fut essentiellement massale : les agriculteurs récoltaient les semences des individus les mieux venus et les semaient en mélange. De nos jours encore, la cueillette et le rejet des graines à proximité des cases, en Afrique par exemple, est une forme de sélection massale inconsciente.

Ce type de sélection, qui utilise au mieux la variance génétique, a une efficacité qui a souvent été sous-estimée (GALLAIS, 1976). Elle a conduit les espèces sauvages vers des formes souvent très différentes de celles de leurs ancêtres d'origine.

Cette diversité des formes domestiquées avait déjà frappé DARWIN. Son ouvrage : « L'origine des espèces » s'ouvre en effet par une discussion sur la variabilité des plantes et des animaux soumis à la domestication.

La domestication s'est traduite par la fixation ou l'accroissement de fréquence de caractères pré-existants dans le patrimoine génétique de l'espèce sauvage que la panmixie et surtout la sélection naturelle empêchaient parfois de s'extérioriser. Un des effets de la domestication aura été l'émancipation des caractères récessifs.

La sélection naturelle et humaine ne s'est évidemment pas exercée de la même manière partout :

A) Dans certaines régions favorables et étendues, il s'est créé une énorme diversité de formes; ces regions, appelées « Centres de diversification » ou « Centres de gènes » existent (ou existaient) sur chaque continent, dans des régions sauvages, sans agriculture. Ils ont cependant pu se former ou se maintenir en présence de l'homme : coexistence en Afrique de formes sauvages et de formes cultivées chez le Mil et le Sorgho.

B) Mais l'espèce a migré vers de nombreuses régions, plus restreintes et bio-climatiquement plus homogènes et typées. L'homme primitif y a repéré des formes qui lui paraissaient satisfaisantes, et s'est efforcé de les conserver.

Cette sélection massale prolongée, s'exerçant sur une population d'effectif limité, a abouti à des écotypes dont les individus sont globalement bien adaptés à la région où ils sont cultivés, mais qui diffèrent entre eux par de nombreux caractères. Ils manifestent par exemple une sensibilité variable à telle ou telle adversité : parasite, accident climatique, leur floraison ou leur maturité s'échelonne dans le temps, etc., ... Cette variabilité individuelle est évidemment précieuse pour la survie éventuelle de l'espèce.

Ces écotypes sont dits « rustiques », c'est-à-dire qu'ils sont modérément mais régulièrement productifs et adaptés à des conditions de culture (préparation du sol, fumures, mauvaises herbes) assez primitives. Ils peuvent malheureusement se montrer extrêmement sensibles à un parasite « importé » (cas des *Vitis*, par exemple), et être amenés à disparaître accidentellement, ce qui n'est pas le cas des « Centres de diversification » où il se trouve toujours des individus pour subsister.

Ces écotypes, assez riches en variabilité, adaptés à la région où ils ont pris naissance, génétiquement dynamiques, sont l'héritage de l'agriculture des siècles passés (HARLAN, 1975).

## III. — Cas des arbres fruitiers

Dans ce schéma général, les arbres fruitiers occupent une place particulière, d'abord parce que la lenteur du développement fait que la sélection s'est exercée sur un plus petit nombre de générations, mais surtout du fait des possibilités de multiplication végétative de certains individus choisis.

L'agriculture a tout d'abord prélevé, dans l'espèce sauvage, sur des arbres sans doute repérés pour leurs qualités, des fruits dont il a semé les graines, et ainsi de suite à chaque génération, sans avoir l'idée d'isoler la descendance de chaque arbre. Cette sélection a abouti, partout où la multiplication végétative (greffage, bouturage, marcottage) était inconnue ou négligée, à des écotypes très semblables à ceux que nous connaissons chez les plantes cultivées annuelles.

C'est le cas, de nos jours, des plantations d'Abricotier du nord de l'Iran (Marand) ou des oasis de Tunisie, des amandiers du Sud-Marocain (Tafilalet, Anti-Atlas, etc., ...).

Ces écotypes finissent par avoir en commun un certain nombre de caractères leur conférant une bonne adaptation générale aux conditions de milieu dans lesquelles ils se sont déterminés (floraison précoce, auto-incompatibilité, amandes douces, maturité précoce, par exemple, pour la population variétale d'abricotiers des oasis de Tunisie), mais ils diffèrent cependant sensiblement les uns des autres dans le détail.

Dans ces populations de semis, la pression de la sélection naturelle et le hasard sont prépondérants sur la pression de sélection exercée par les agriculteurs. Mais il en va très différemment lorsqu'intervient la multiplication végétative.

Dans un premier stade, coexistent des variétés repérées pour leurs qualités et une multitude de semis (Palmiers-dattiers d'Afrique du Nord, Abricotiers de Tunisie, Amandiers de Sicile, etc., ...). Cette situation évolue avec l'élévation du

niveau technique, vers des plantations uniquement issues de la multiplication des quelques individus choisis. Dans ce stade ultime, on ne peut plus vraiment parler d'écotypes.

La multiplication végétative a permis de fixer une multitude de caractères récessifs préexistants, mais qui auraient disparu par le jeu de la sélection naturelle ou du hasard, dans ces écotypes à effectif limité. C'est en particulier le cas de toute rencontre génétique particulière, la « combinaison heureuse » (fruits très gros, parfois parthénocarpiques (oranges), autocompatibles, etc., ...).

Mais chaque fois que deux gènes sont avantagés par la sélection, celle-ci tend à renforcer le linkage et l'épistasie entre eux (HALDANE, 1957; TURNER, 1967 *a* et *b*, FRANKLIN et LEWONTIN, 1970). Les relations épistatiques ainsi établies sont à l'origine de la formation progressive et du maintien des linkats (DEMARLY, 1965), combinaisons de gènes liés que la sélection favorise dans le système où ils surviennent et à l'intérieur desquels elle tend à rendre la recombinaison moins fréquente : ils se transmettent comme une unité et sont coadaptés à l'état hétérozygote et protégés contre la recombinaison (DEMARLY, 1971).

L'existence de ces linkats chez les arbres fruitiers a été soupçonnée par WILLIAMS et BROWN (1956) alors qu'ils comparaient, pour toutes les variétés de pêches connues, la distribution de certains caractères monofactoriels avec celle de caractères plurifactoriels, comme la date de floraison ou de maturité. Ils constatèrent que les premiers n'étaient pas distribués au hasard dans les seconds; ils supposèrent que ces anomalies étaient une forme de pléïotropie. HESSE (1975), analysant récemment ces travaux, montre que ces cas de pléïotropie apparente sont l'expression de systèmes polygéniques liés.

Les linkats sont en partie responsables de l'aptitude générale à la combinaison, ou valeur hybride, bien connue des sélectionneurs, définie comme la moyenne des effets gamétiques d'un individu (DEMARLY, 1972). Ils donnent des effets additifs simples mais également épistatiques : épistasie « cis » (DEMARLY, 1972), résultant des interactions intra- ou inter-linkats sur un même segment chromosomique (fig. 1). Cette épistasie « cis » a été renforcée par la sélection massale et apparaît dans les linkats comme une additivité globale et donc détermine l'héritabilité. Elle marque fortement l'aptitude générale à la combinaison des allogames.

Il existe également une épistasie « trans » qui résulte des interactions entre

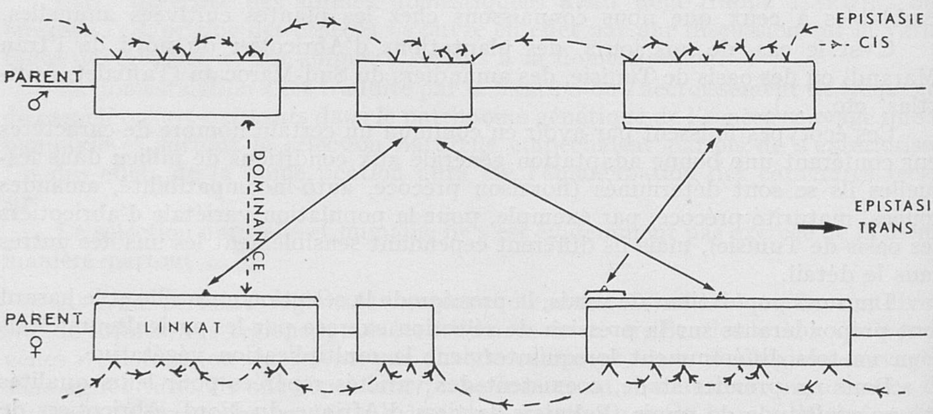



FIG. 1. — *Les deux types d'épistasie.*

linkats non homologues. C'est un système d'ajustement au milieu qui s'exprime par ce qu'on est convenu d'appeler l' « aptitude spécifique à la combinaison ».

La réduction du taux de recombinaison entre linkats, qui contrôle la nécessaire stabilité d'une espèce allogame est, selon PANDEY (1972), assurée par des gènes dominants. Elle serait, par contre, contrôlée par des gènes récessifs à l'intérieur des linkats.

Dans le cas d'une population fruitière d'effectif limité (variétés multipliées végétativement, associées à des semis de hasard), les pressions de sélection humaines et naturelles ont créé peu à peu des linkats et renforcé les liaisons entre eux de manière que les caractères génétiques sont à la limite transmis sans recombinaison par chromosomes entiers (groupements de linkats ou superlinkats).

Ceci a pour conséquence de donner aux individus constituant ces écotypes anciens des allures de famille, souvent particulièrement typées (Amandiers de Provence ou des Pouilles, Abricotiers de Sfax ou de Tabriz), qui sont anormales dans un régime allogame de fécondation. On peut ajouter que les descendances qu'on observe peuvent ainsi donner l'impression que les caractères héréditaires sont à déterminisme simple, alors qu'il en va sans doute bien autrement.

Enfin, les caractères polygéniques qui apparaissent souvent comme très additifs sont, en fait, la résultante d'actions additives et épistatiques (épistasie « cis » qui se confond avec additivité et linkat) qu'il est souvent difficile de séparer.

Les meilleures variétés sont celles où un équilibre épistatique « cis » plus « trans » heureux s'est réalisé.

## IV. — Les conséquences de cette sélection pour l'amélioration des espèces fruitières

A) Dans les zones où la sélection avec multiplication végétative est connue depuis longtemps, les variétés fruitières apparaissent comme particulièrement inféodées au milieu bioclimatique dans lequel elles ont été sélectionnées.

Ceci est particulièrement sensible avec l'Abricotier ou l'Olivier, mais se manifeste également de manière nette avec des espèces réputées plus souples : vieilles variétés régionales de pêches (variétés espagnoles), de prunes (Prune d'Agen) ou de pommes (variétés du Pays Basque).

Inversement, les variétés fruitières ayant une grande souplesse d'acclimatation résultent souvent, lorsqu'on les connaît, de croisements entre génotypes géographiquement et génétiquement éloignés :

La plus cultivée des variétés de pêches américaines « Elberta » celle qui a révolutionné cette culture et donné naissance à une multitude de variétés récentes, est issue du croisement entre une vieille variété anglaise « Early Crawford », et un semis d'une variété chinoise « Chinese Cling ».

Beaucoup de variétés de pêches importantes, adaptées aux hivers doux, comme « Springtime », « Robin » ou « Rubidoux », sont issues d'une variété chinoise « Honey » croisée par « July Elberta ».

La prune « Stanley » est issue du croisement entre « Agen » d'origine orientale ancienne, et une variété anglaise « Grand Duke ».

Nous avons des raisons de penser que les pommes « Golden Delicious » et « Delicious », et l'abricot « Canino » sont issus également de croisements entre variétés d'origines géographiques différentes.

Or, nous savons qu'il existe un lien entre la distance génétique et la diversité enzymatique (études en électrophorèse) et entre celles-ci et la souplesse d'adaptation. Il semble que l'hétérosis, lié à la diversité enzymatique, s'exprime souvent comme une modulation (c'est-à-dire une souplesse adaptative) autour d'un codage essentiel (Demarly, 1977).

Il en résulte que tout croisement entre variétés appartenant au même écotype, outre qu'il ne pourrait reproduire à peu près que ce qui est déjà apparu dans le passé, et fait l'objet d'une « sélection traditionnelle » séculaire, ne donnerait que des variétés inféodées au climat de la région où il s'est constitué (fig. 2).

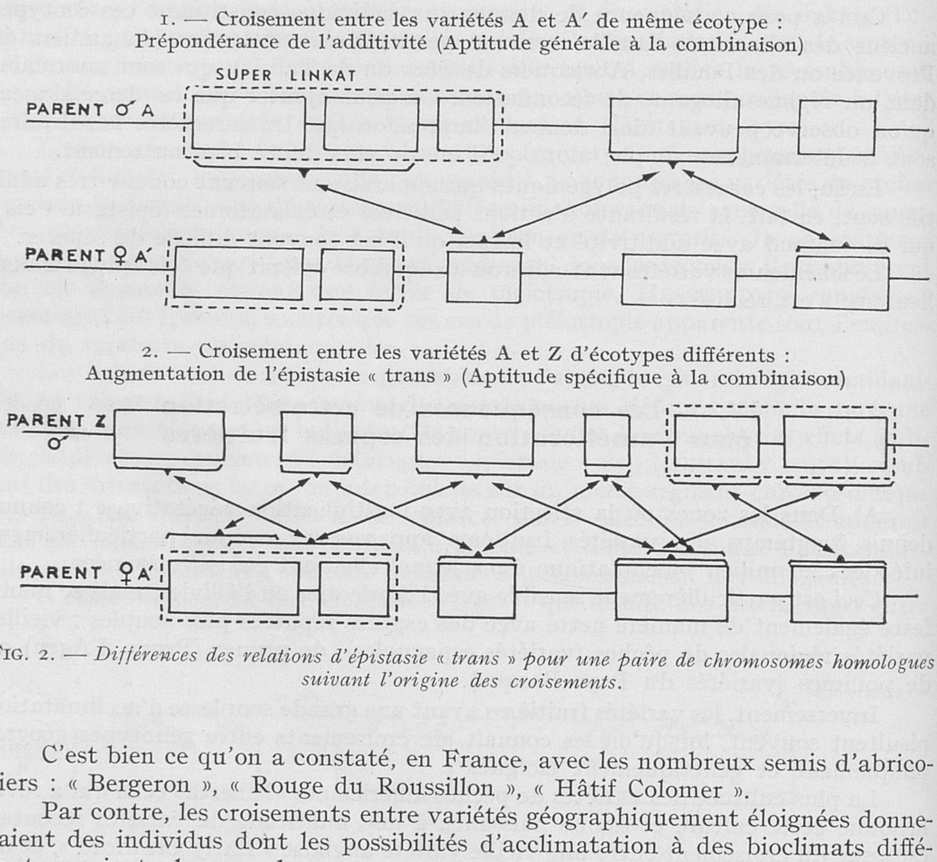



Fig. 2. — *Différences des relations d'épistasie « trans » pour une paire de chromosomes homologues suivant l'origine des croisements.*

C'est bien ce qu'on a constaté, en France, avec les nombreux semis d'abricotiers : « Bergeron », « Rouge du Roussillon », « Hâtif Colomer ».

Par contre, les croisements entre variétés géographiquement éloignées donneraient des individus dont les possibilités d'acclimatation à des bioclimats différents seraient plus grandes.

En fait, croiser des individus d'écotypes géographiquement et donc génétiquement éloignés, c'est donner à la sélection naturelle ou artificielle, matière à exercer une sélection disruptive (1) (Mather, 1953, Thoday, 1972). Or, cette introgression entre groupes extrêmes libère de la variabilité en mettant en opposition des linkats très différents provenant des génomes parentaux.

(1) Rappelons que la sélection disruptive consiste à ne laisser subsister à chaque génération que les phénotypes des deux extrêmes de la distribution d'un caractère, tout en leur permettant de se croiser entre eux pour produire la génération suivante.

On peut ainsi profiter non seulement des avantages de l'additivité mais aussi de ceux, malheureusement imprévisibles et donc incontrôlables, de l'aptitude spécifique à la combinaison : l'épistasie a certainement un rôle plus important que l'additivité dans les qualités qui font une grande variété fruitière.

Il faudrait donc nous montrer plus hardis dans le choix de nos géniteurs si nous voulons obtenir, dans la descendance, des aptitudes vraiment nouvelles.

Nous pouvons, à titre d'exemple, présenter un résultat concret : en 1954, pour obtenir un abricot plus précoce que la variété « Canino », nous avons effectué un croisement entre cette variété espagnole et une variété tunisienne, « Hamidi », ayant pour seuls avantages la précocité et l'adaptation aux hivers doux, mais donnant des fruits petits et très fragiles.

Les centaines d'hybrides fournis par ce croisement furent sélectionnés simultanément à Tunis et à Manduel, (près de Nîmes), par des chercheurs différents. Or, les types pré-sélectionnés jugés les mieux adaptés dans chacun des deux pays furent les mêmes, ce qui démontre la souplesse d'adaptation des individus du croisement.

Un certain nombre de caractères avaient été transmis de manière apparemment strictement additive (Aptitude générale à la combinaison), comme, par exemple, la résistance aux hivers doux, la grosseur des fruits, la date de maturité, la résistance au Monilia, le port de l'arbre et le type de fructification.

Mais beaucoup d'hybrides pré-sélectionnés ont révélé, par la suite, une aptitude à la transformation industrielle très largement supérieure à celle des deux parents, notamment « Hamidi », ce qui était évidemment tout à fait imprévisible (Aptitude spécifique à la combinaison, donc intervention d'effets non additifs) (Carraut et Crossa Raynaud, 1974).

Cependant, la présence des linkats et le faible taux de recombinaison a donné aux individus de ce croisement une allure relativement homogène et l'effectif de la descendance aurait pu être notablement réduit. En fait, on pourra, avec des descendances limitées à cent ou deux cents individus, avoir une bonne idée de la valeur d'un croisement entre variétés d'espèces pourtant très allogames, comme le Pommier, le Poirier ou l'Amandier, et y sélectionner même des variétés nouvelles de valeur.

B) L'origine des variétés fruitières que nous cultivons est étonnament étroite. Hesse (1975) a montré qu'aux États-Unis, inconsciemment ou non, l'amélioration variétale du Pêcher au cours de ce siècle remonte à un nombre très limité de variétés, et a donc une base génétique très étroite. La même remarque pourrait être faite pour d'autres espèces fruitières : L'Amandier, par exemple, chez lequel toutes les variétés américaines actuelles ont une origine commune (semis de « Hatch », issus eux-mêmes d'une même variété, d'origine probablement provençale).

Les hybrides qui en résultent se ressemblent alors souvent beaucoup entre eux, par leurs qualités comme par leurs défauts. Si l'on fait appel à des variétés classiques plus ou moins apparentées, on est à peu près assuré d'obtenir des résultats convenables à court terme : c'est satisfaisant pour les créateurs, comme pour les organismes qui financent les programmes. On a pu ainsi obtenir des gammes de variétés voisines, à maturité échelonnée, qui ont justifié les efforts consentis.

Mais, actuellement, l'énorme effort de création variétale en cours, basé sur les mêmes principes, n'a plus la même justification et donne l'impression de l'essoufflement.

En outre, les croisements entre des variétés très améliorées, plus ou moins

apparentées, qui sont presqu'universellement pratiqués actuellement, auront pour conséquence de consolider des liaisons et donc de diminuer la variabilité ainsi que les possibilités d'acclimatation des nouvelles obtentions.

Il semble maintenant qu'au critère d'augmentation de la production, qui fut prépondérant durant ces dernières décennies, se substitue peu à peu, du fait de la satisfaction des besoins et de l'évolution des mentalités, un critère de qualité : goût typé ou de terroir, résistance génétique aux insectes ou aux parasites, type de fructification limitant les frais d'éclaircissage chimique ou manuel, type de ramification facilitant la taille, etc., ...

Les nouvelles sélections n'ont de chance de remplacer les anciennes variétés que si, à productivité égale, elles apportent une amélioration sensible de ces critères de qualité.

Ce n'est probablement pas en utilisant jusqu'à l'excès un patrimoine génétique diminuant à chaque génération qu'on trouvera une solution originale à ces problèmes.

Par contre, les croisements entre des individus provenant d'écotypes géographiquement très différents, juxtaposent des groupements fonctionnels (linkats) produits par des pressions de sélection radicalement différentes suivant les régions où elles se sont exercées. Il pourra en résulter parfois une diminution du niveau moyen de certains caractères. Il est donc nécessaire de planifier un schéma de sélection pour augmenter la variabilité.

On pourra par exemple, à la génération suivante, soit effectuer un début de croisement pyramidal de type AB $\times$ CD, soit autoféconder les meilleurs individus de la descendance afin de former des génotypes composites en ce qui concerne l'origine de leurs segments chromosomiques homologues, mais suffisamment homozygotes pour que les contrôles de la recombinaison (Pandey, 1972), soient supprimés dans les méioses qui y surviennent (Rives, 1977).

L'obtention de variétés nouvelles, supérieures aux variétés actuelles, notamment pour les espèces fruitières sur lesquelles un effort de sélection génétique particulier a été fait, ne peut découler maintenant que d'une stratégie d'amélioration à long terme.

C) Beaucoup de travaux de recherches ont été accomplis sur les espèces fruitières, en négligeant le fait que la collection de variétés sur laquelle on expérimentait ne représentait qu'une petite fraction de la variabilité de l'espèce.

Un des cas les plus évidents est celui du Café (*Coffea Arabica*) dont tous les plants cultivés jadis en Afrique et actuellement, en Amérique du Sud, sont issus d'une poignée de graines rapportées d'Éthiopie par un explorateur. Malgré les possibilités de variations dues aux mutations, la variabilité génétique des variétés actuelles est forcément limitée (N'en est-il pas de même de certains écotypes d'espèces importées d'Orient en Occident, dans l'Antiquité, comme la Pêche ou l'Abricot?).

On a parfois conduit des travaux compliqués, faisant intervenir des hybridations interspécifiques hasardeuses, pour inclure un gène particulier dans une espèce, sans s'être vraiment préoccupé de savoir si ce gène ne s'exprimait pas déjà dans une variété locale.

Kester (1970) a recroisé, pendant plusieurs générations, un hybride Pêcher $\times$ Amandier par l'Amandier, pour transférer le gène de l'autocompatibilité du Pêcher à l'Amandier, alors que ce caractère est fixé, depuis très longtemps sans doute, dans certaines variétés des Pouilles (Italie).

La loi des variations parallèles de Vavilov, qui prévoit que si un caractère

existe dans une espèce, il doit exister aussi dans les espèces voisines, commence à orienter certains travaux. C'est ainsi que la résistance aux Nématodes du sol, découverte chez certains pêchers orientaux, a incité les Tunisiens et les Israëliens à rechercher si elle n'existerait pas aussi chez l'Amandier : elle y a été effectivement découverte récemment (KOCHBA J. et SPIEGEL ROY P., 1972).

C'est ainsi que nous avons pu mettre en évidence la résistance au Monilia sur fleur de certaines variétés d'Abricotier et d'Amandier, provenant de régions où cette maladie est endémique, alors qu'on écrivait que l'ensemble de ces espèces était sensible (CROSSA RAYNAUD P., 1969).

D) Suivant RIVES (1974) :

« Les règles d'utilisation des espèces sauvages (et, à notre avis, des écotypes), « comme source de gènes pour l'amélioration consistent :

« *a*) dans la nécessité de prospecter toute l'aire de l'espèce et de l'échan- « tillonner dans son ensemble;

« *b*) à réunir un nombre assez grand de génotypes pour pouvoir étudier « la variabilité de l'espèce pour le ou les caractères étudiés;

« *c*) à soumettre ces génotypes, non seulement à une évaluation de « leur valeur phénotypique pour chaque caractère étudié, mais encore de leur « aptitude à transmettre ce caractère, au moyen de tests de descendance pra- « tiqués sur des top-cross (...);

« *d*) à suppléer aux difficultés d'introduction en organisant des croise- « ments entre les différents génotypes réunis en collection (...). « On a ainsi « toute chance d'obtenir une variabilité plus grande que la variation naturelle, « qui résulte de croisements entre génotypes voisins. »

Ces considérations nous conduisent à la nécessité de pouvoir disposer pour nos croisements, de collections variétales représentatives des divers écotypes existant dans chaque espèce fruitière, et de les conserver dans ce que l'on appelle maintenant des « Banques de gènes ».

Or, dans beaucoup de pays, non seulement les « Centres de diversification » voient leur variabilité diminuer, du fait de la concurrence de l'Agriculture moderne, mais surtout bien des écotypes ont disparu.

Des collections de plusieurs centaines de variétés de poires et d'abricots avaient été réunies, après la dernière guerre, dans nos Stations fruitières d'Angers et de Bordeaux, faisant appel, entre autres, aux vieilles variétés régionales françaises. Ces collections ont malheureusement en grande partie disparu et il serait probablement impossible maintenant de les reconstituer convenablement. Or, ces vieilles variétés, bien adaptées à notre pays, représentaient une source de gènes irremplaçable.

Outre une recherche orientée vers des fruits présentant des qualités organoleptiques supérieures (ou différentes) aux variétés standardisées et lassantes que l'on nous offre actuellement, ce fond de variabilité nous permettrait sans doute de faire face, efficacement, à l'apparition d'un ravageur nouveau. C'est le cas, actuellement en France, de certaines maladies à mycoplasme (Enroulement chlorotique de l'Abricotier, Maladie de Molières du Cerisier et du Prunier), ou à virus (Sharka) — pour ne parler que des cas les plus récents.

Aux États Unis, la présence de collections bien entretenues a permis de résoudre avec élégance les graves problèmes posés par le Western × Disease sur le Ceri-

sier (WADLEY, 1975), le Pear Decline du Poirier (SCHNEIDER, 1970), la Tavelure du Pommier (HOUGH, 1970) et, dans un proche avenir, le Feu bactérien du Poirier (JANICK, 1976).

Aucun de ces travaux n'aurait été possible sans la découverte de types résistants dans les espèces ou variétés en collection.

Ne serait-il pas opportun que notre Pays (ou la Communauté européenne) accorde, enfin, les moyens nécessaires à la création de « Banques de gènes », et à l'amélioration du matériel de base, pour les principales espèces fruitières, avant qu'il ne soit trop tard ?

*Reçu pour publication en mars 1977.*

## Summary

*Fruit varieties acclimatation*

Most of old fruit varieties show strict limits of acclimatation to environment.

Natural and human selection has lead in the past, in restricted rather bioclimatically uniform areas, located outside the " Gene centres ", to the constitution of ecotypes or " land races " of limited variability and size.

But each time two genes are promoted by selection, epistasis between them tends to tighten their linkage.

These epistatic relations are at the origin of the constitution of cluster of linked genes or « linkats » that selection promotes in the system where they arise and in which recombination is reduced.

Outside the linkats, recombination is also reduced, in cross-pollinated species, by dominant factors. Thus crosses among related varieties can only consolidates linkage.

In consequence seedlings of old ecotypes will often have some typical appearance and will give the impression that the hereditary characters have rather simple genetical control although reality is probably quite different.

It may be possible to find in them new varieties but they will be closely acquainted to thoses which were already bred in the past with the same qualities or defects and limited possibilities of adaptation to different environments.

But we know that there is a relation between genetical distance, enzymatic diversity and easiness of acclimatation.

In these conditions, crosses between geographically unrelated varieties should give us individuals with better possibilities of acclimatation for they will pair « linkats » that have been selectionned in quite différent environments.

Thereby epistasis between the two genomes will be greatly increased and consequently the « specific combining ability " will improve.

In facts, known varieties that have the best possibilities of acclimatation are issued from crosses between geographically and genetically quite distant varieties. For example, this is the case of most of the American peach varieties which are issued from crosses between European and Chinese varieties.

It seems that epistasis is more important than additivity in the qualities for a major fruit variety.

But now a days the genetical origin of our fruit varieties is surprisingly limited and shrinks at each generation. The breeding programs we have worked out using the same and best varieties, have given us full satisfaction.

But, at present, improvement slows down significantly and further more crosses within those related varieties will tighten linkage, lessen variability and epistasis and, by the way, diminish natural disposition to fit to different environments.

We can of course consider that the level we have reached is satisfactory and stop our breeding programs, but new diseases or new economical problems can appear suddenly.

In facts, future varieties will take the place of the present ones only if, with equal productivity, they provide appreciable improvements of quality (better flavor, genetic resistance to pests and fungal diseases, large possibilities of acclimatation, type of bearing limiting the cost of pruning or thinning, etc...).

Crosses between varieties of non related ecotypes may probably give a decrease of the cultural value at the first generation but it is not by using as we often do a genetical make-up vanishing at each generation than we may hope to solve these problems.

New varieties, better than those we already use, can only arise from a long term program using the whole variability of the fruit species.

## Références bibliographiques


CARRAUT A., CROSSA RAYNAUD P., 1974. L'amélioration des variétés d'abricotier en Tunisie. *Ann. Inst. nat. Rech. agron. Tunis.*, **47** (2), 33 p.

DEMARLY Y., 1967. La mejora genetica de la alfalfa. *Premieras Jornadas Nacional sobre la alfalfa*, 36-48.

DEMARLY Y., 1971. Genetic comparison in di- and tetraploids. *Eucarpia Fooder crops Section. Rep. Meet.*, Lusignan, sept. 15-17th 1970, 9-37.

DEMARLY Y., 1972. Commentaires sur l'aptitude à la combinaison. *Ann. Amélior. Plantes*, **22**, 187-200.

DEMARLY Y., 1977. *Génétique et amélioration des Plantes*. Masson, Paris, 288 p.

FRANKLIN I., LEWONTIN R. C., 1970. Is the gene the unit of selection.? *Genetics*, **65**, 707-734.

GALLAIS A., 1976. Approche de la théorie de la sélection et de la création de variétés. *TDR*(*) (2), 8-14.

HALDANE J.-B.-S., 1957. The conditions of coadaptation in polymorphism for inversions. *J. Genet.*, **55**, 218-225.

HARLAN J. R., 1975. Our wanishing genetic ressources. *Science*, **133**, 618-621.

HESSE C. O., 1975. *Advance in fruit breeding*: Peach. 319-322. Purde University press. Indiana.

HOUGH L. F. *et al.*, 1976. Progress and problems in breeding apple for Scrab resistance. *Proc. Angers Fruit Breed. Symp. Eucarpia*, 217-231.

JANICK J. *et al.*, 1976. Fire blight resistance and quality in Pear. *Fruit Var. J.*, **30** (1), 9-10.

KESTER D. E., 1970. Transfer of self-fertility of peach (*P. persica L.*) to almond (*P. Amygdalus, Batch.*). *West. Sec. Amer. Soc. hort. Sci. Berkeley* (Abstract).

KOCHBA J., SPIEGEL ROY P., 1972. Resistance to Root Knot Nematodes in bitter Almond progenies and Almond × Okinawa Peach hybrids. *Hort Science*, (**5**), 503-505.

MATHER K., 1953. The genetical structure of populations. *Symp. Soc. exp. Biol.*, **7**, 66-95.

PANDEY K. K., 1972. Origin of genetic variation : regulation of genetic recombination in the higher organisms. *Theor. appl. Genet.*, **42**, 250-261.

RIVES M., 1974. Les vignes sauvages comme source de gènes pour l'amélioration. *Vitis*, **13**, 186-197.

RIVES, M., 1976. La recombinaison. *TDR*(*) (2), 21-30.

RIVES M., 1977. Réflections pour une stratégie de l'amélioration de la Vigne. *Ann. Amélior. Plantes*, **27**, (1), 61-73.

SCHNEIDER H., 1970. Graft transmission and host range of the Pear decline causal agent. *Phytopathology*, **60**, 204-207.

THODAY, 1972. Disruptive Selection. *Proc. Roy. hort. Soc.*, London IB, **182**, 109-143.

TURNER J. R. G., 1967. *a* On supergenes I : the evolution in supergenes. *Amer. Nat.*, **101**, 195-223.

TURNER J. R. G., 1967. *b* Why does the genotype not congeal? *Evolution*, **21**, 645-656.

WADLEY B. N., 1975. Angela, a X-Disease resistant Sweet Cherry. *Fruit Var. J.*, **29** (3), 70.

WILLIAMS W., BROWN H. G., 1956. Genetic response to selection in cultivated plants, gene frequencies in varieties of *Prunus persica*. *Proc. Roy. Soc.* B., **145**, 337-347.


---

(*) TDR, Bulletin de liaison interne du Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes de l'I.N.R.A., a une circulation restreinte; une copie de l'article cité peut être obtenue en s'adressant au Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes, 11, rue Jean-Nicot, 75007 Paris, ou à l'auteur.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (5), 509-522.

# Etude de la résistance du Melon *(Cucumis Melo L.)* au virus de la Mosaïque du Concombre

Georgette RISSER, M. PITRAT et J. C. RODE

*Station d'Amélioration des Plantes maraîchères,*
*Centre de Recherches agronomiques d'Avignon, I.N.R.A.,*
*Domaine Saint-Maurice, 84140 Montfavet*

## Résumé

Nous avons mis en évidence, en conditions naturelles d'infection par le virus de la Mosaïque du Concombre, le bon comportement d'un certain nombre de lignées de Melon « LJ 34340 », « 90279 », « 90389 », « 90436 », « Ginsen Makuwa », « Kanro Makuwa », « Nagata kim Makuwa », « PI 161375 » généralement originaires d'Extrême-Orient. Il s'agit d'une tolérance, des symptômes faibles et tardifs étant souvent observés. Dans ces conditions d'infection naturelle, c'est la lignée « PI 161375 » qui se montre la plus tolérante.

Après inoculation artificielle, il n'y a généralement pas de symptômes de mosaïque sur aucune de ces lignées. Nous n'avons pas observé de plantes sensibles dans les générations $F_1$ et $F_2$ des croisements réalisés entre « 161375 » et les autres variétés tolérantes : le même mécanisme génétique gouvernerait donc la tolérance de toutes ces lignées.

L'étude des croisements avec des lignées « Charentais » sensibles montre que la résistance de PI 161375 est sans doute oligogénique.

Après avoir montré que la sélection pour la résistance est au moins aussi efficace après infection artificielle qu'en conditions naturelles, nous introduisons la résistance dans le type variétal « Charentais » en faisant alterner rétrocroisements et autofécondations.

## Introduction

En France, la principale virose des Cucurbitacées est due au virus de la Mosaïque du Concombre (VMC). Ce virus est transmis par différents pucerons (*Aphis frangulae, A. gossypii, A. fabae, Myzus persicae...*) sur le mode non persistant. Cette maladie est particulièrement répandue dans le Sud-Est où se situe 70 p. 100 de la production de Melon. Les moyens de lutte actuellement utilisés sont indirects : les cultures de plein champ sont limitées aux zones de côteaux où les vols de pucerons sont moins fréquents et plus tardifs, les cultures de plaine

sont protégées par des couvertures plastiques (petits ou grands tunnels) qui permettent à la plante de bien se développer avant les attaques importantes de VMC; on constate également un effet très favorable du paillage du sol par des films plastiques transparents, effet dû à l'augmentation de la précocité et sans doute à un effet répulsif vis-à-vis des pucerons. Malgré tout, le VMC reste dommageable pour les cultures forcées ou semi-forcées car son installation tardive ne permet pas aux plantes de produire une « remontée » (deuxième vague de production) de qualité et quantité suffisante.

Outre le Melon, les autres Cucurbitacées cultivées (Concombre, Courge) ainsi que de nombreuses plantes maraîchères (Piment, Tomate, Épinard, Céleri...) sont sensibles au VMC. Des variétés de Concombre-Cornichon et d'Épinard resistantes au VMC sont commercialisées en France. Pour le Melon différentes publications ont déjà signalé l'existence de plantes résistantes à ce virus (Webb et Bohn, 1962) ou résistantes à « la Mosaïque » sans préciser l'agent responsable (Whitaker et Bohn, 1954). Nous avons donc voulu étudier les possibilités de sélectionner des variétés génétiquement résistantes.

## Résultats

### 1. — *Recherche de lignées résistantes*

a) *Observations en plein champ*

Nos champs d'expérimentation sont situés dans une région où toutes les années les infections par le VMC sont importantes. L'observation de collections de Melon montre de grandes différences de sensibilité variétale. Certaines variétés, par exemple « PMR 6 », sont extrêmement sensibles : leur croissance est complètement arrêtée, leur feuillage jaunit et se nécrose. Les « Cantaloup Charentais » (type le plus cultivé en France) présentent différents symptômes : mosaïque et déformation du feuillage et des fruits, avortement des fleurs, ralentissement de la croissance; chacun de ces symptômes peut être plus ou moins intense. Enfin, certaines variétés ont des symptômes de mosaïque faibles et tardifs et ne présentent pas de baisse de vigueur appréciable. Il existe des variétés à tous les niveaux entre la plus sensible et la plus résistante et il est possible de classer les variétés selon un gradient de sensibilité.

Les lignées les plus tolérantes observées dans notre collection proviennent des lots de graines suivants :

— « LJ 34340 », « 90279 », « 90389 » « 90436 » provenant de La Jolla (Californie).
— « Ginsen makuwa », « Kanro makuwa », « Nagata kim makuwa » (origine japonaise).
— « Freeman's cucumber » fourni par S. Cohen (Israël).
— « Songwhan charmi » = « PI 161375 » (origine coréenne).

La figure 1 présente la vitesse d'apparition des symptômes de mosaïque chez quelques-unes de ces variétés. Dans nos conditions, « PI 161375 » est apparu comme la variété ayant la meilleure tolérance.

b) *Observations après contamination artificielle*

Au champ l'importance réelle du VMC est difficile à déterminer objectivement. Elle varie en fonction du climat de l'année qui influe sur l'époque et l'importance des premiers vols de pucerons et en fonction de la précocité de la culture et du développement qu'a atteint la plante au moment de l'infection. D'autre part pour juger de l'influence du VMC sur la croissance et les rendements il n'est pas possible de maintenir des témoins sains, non contaminés. Nous avons donc essayé d'utiliser une technique d'inoculation artificielle.

Nous utilisons la technique d'inoculation suivante : 1 g de feuilles de Melon présentant des symptômes de mosaïque est broyé dans 4 ml d'une solution saline ($Na_2HPO_4$ 0,03M) additionnée de diéthyldithiocarbonate de sodium (0,01M); à ce broyat, on ajoute du charbon actif (100 g/ml) et du carborundum 240 mesh (75 mg/ml). Les plantes élevées en serre sont inoculées avec ce mélange par frottage des deux cotylédons au stade première feuille étalée. Elles sont alors placées en chambre climatisée (12 h/jour, 12-15 000 lux, 25 °C/12 h nuit, 18 °C).

La souche utilisée est la souche TL isolée dans le Sud-Est à partir de *Stellaria media* par QUIOT (MARROU *et al*, 1975) car des essais comparés de diverses souches nous ont montré que cette souche permettait de bien différencier les lignées tolérantes telles « PI 161375 » des lignées sensibles telles que « Charentais ». Elle est conservée suivant la technique décrite par BOS (1969). Elle provoque chez les plantes sensibles une mosaïque qui apparaît 4 à 8 jours après l'inoculation; les plantes tolérantes ne présentent pas de symptômes, ou quelquefois des symptômes localisés à la première feuille. On observe une plus grande sensibilité des plantes de « PI 161375 » en période hivernale quand les plantules se développent en serre en conditions peu favorables.

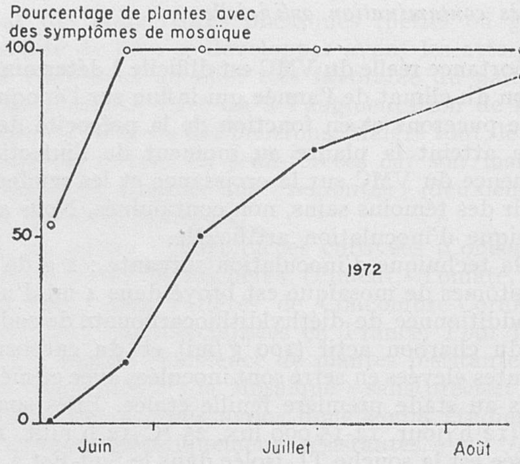
La présence ou l'absence de mosaïque est ordinairement la seule notation faite après infection artificielle mais les symptômes de mosaïque s'accompagnent généralement d'une baisse de vigueur; ainsi, le tableau 1 compare le poids des plantes de « Charentais » et de « PI 161375 » inoculées ou non, 13 et 25 jours après l'infection : alors qu'il n'y a pas de baisse de vigueur significative chez « PI 161375 » après inoculation, une baisse très significative d'environ 35 p. 100 est observée chez le « Charentais ».

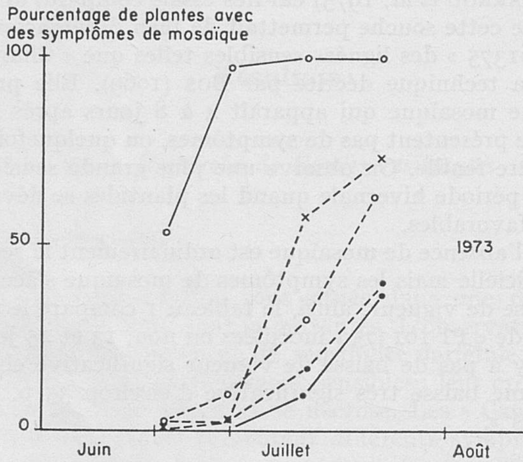
TABLEAU 1

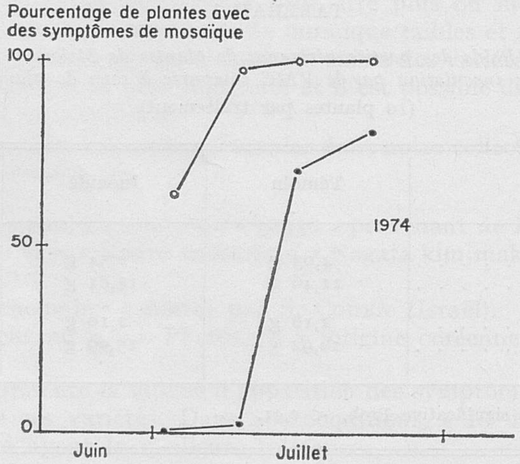
*Poids des parties aériennes de plantes de Melon*
*13 et 25 jours après inoculation par le VMC comparée à ceux de plantes non inoculées*
(10 plantes par traitement)

| | | Témoin | Inoculé | *t* de Student |
|---|---|---|---|---|
| « Charentais » | I + 13 . . . . . | 4,03 g | 2,54 g | 6,782 (**) |
| | I + 25 . . . . . | 21,46 g | 14,81 g | 4,573 (**) |
| « PI 161375 » | I + 13 . . . . . | 2,18 g | 2,10 g | 0,637 |
| | I + 25 . . . . . | 16,92 g | 15,09 g | 1,037 |

(**) Différence très significative Prob. < 0,01.


Pourcentage de plantes avec
des symptômes de mosaïque
100
50
0
1972
Juin
Juillet
Août


Pourcentage de plantes avec
des symptômes de mosaïque
100
50
0
1973
Juin
Juillet
Août


Pourcentage de plantes avec
des symptômes de mosaïque
100
50
0
1974
Juin
Juillet

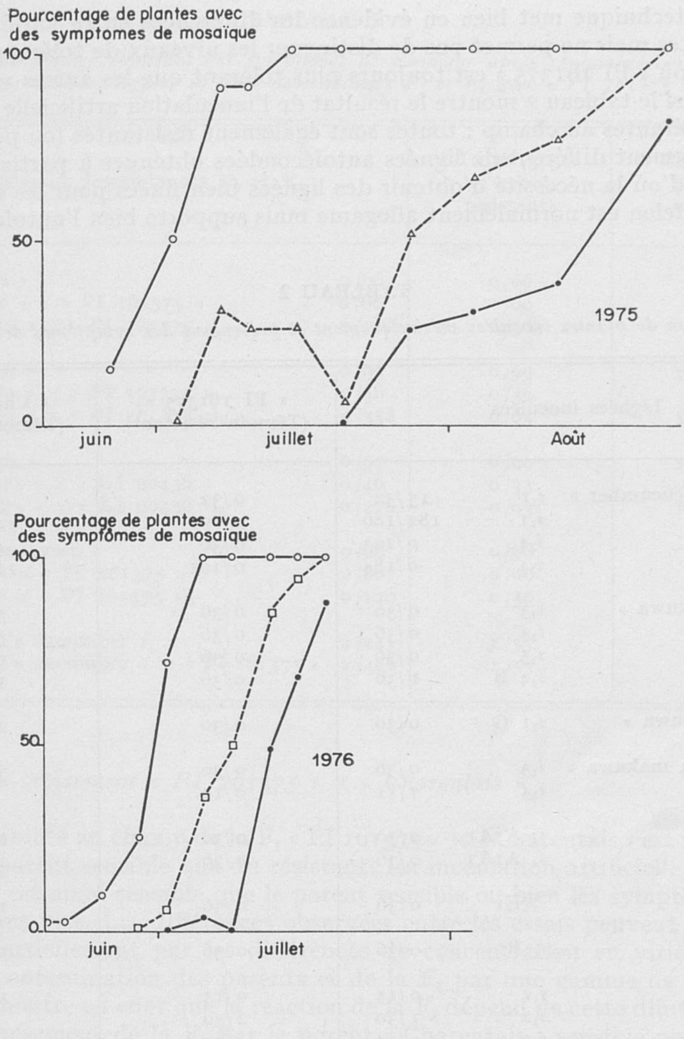



FIG. 1. — *Pourcentage de plantes présentant des symptômes de mosaïque en fonction du temps. Observations faites en plein champ pendant 5 années*

o———o « Charentais »
●———● « PI 161375 »
o- - - - -o « LJ 34340 »
●- - - - -● « LJ 90389 »
□ . . . . . □ « LJ 90436 »
× . . . . × « Kanro makuwa »
△ . . . . . △ « Ginsen makuwa »

Cette technique met bien en évidence les différences entre variétés sensibles et résistantes mais ne permet pas de distinguer les niveaux de tolérance observées au champ où « PI 161375 » est toujours plus tolérant que les autres variétés tolérantes. Ainsi le tableau 2 montre le résultat de l'inoculation artificielle des variétés les plus tolérantes au champ : toutes sont également résistantes (on peut observer le comportement différent de lignées autofécondées obtenues à partir d'un même lot origine d'où la nécessité d'obtenir des lignées bien fixées pour les études génétiques; le Melon est normalement allogame mais supporte bien l'autofécondation).

TABLEAU 2

*Proportion de plantes inoculées mécaniquement et présentant des symptômes de mosaïque*

| Lignées inoculées | | | « PI 161375 » (Témoin résistant) | « Charentais » (Témoin sensible) |
|---|---|---|---|---|
| « Freeman's cucumber » | $i_1$1 | 15/32 | 0/32 | 31/32 |
| | $i_1$1 | 182/186 | 0/101 | 124/124 |
| | $i_1$4 | 0/203 | 0/30 | 43/47 |
| | $i_1$4 | 0/184 | 0/101 | 124/124 |
| « Ginsen makuwa » | $i_1$3 | 0/36 | 0/36 | 36/36 |
| | $i_1$4 | 0/36 | 0/36 | 36/36 |
| | $i_1$5 | 0/36 | 0/36 | 36/36 |
| | $i_2$4 B | 1/36 | 0/36 | 18/18 |
| « Kanro makuwa » | $i_2$1 G | 0/30 | 0/30 | 29/30 |
| « Nagata kim makuwa » | $i_1$3 | 0/36 | 0/36 | 36/36 |
| | $i_1$4 | 7/11 | 0/12 | 6/6 |
| « LJ 34340 » | $i_4$ A1A1 | 0/30 | 0/30 | 29/30 |
| | $i_4$ A1A3 | 0/36 | 0/36 | 18/18 |
| « LJ 90279 » | $i_2$ E1 | 0/36 | 0/36 | 18/18 |
| « LJ 90389 » | $i_2$ B1 | 0/36 | 0/36 | 18/18 |
| « LJ 90436 » | $i_1$2 | 0/15 | 0/15 | 15/15 |
| | $i_1$2 | 1/30 | 2/30 | 8/9 |
| | $i_1$3 | 0/15 | 0/15 | 15/15 |
| « PI 164825 » | (or.) | 1/11 | 0/12 | 6/6 |

## 2. — *Hérédité de la résistance*

a) *Étude des croisements entre lignées tolérantes*

« PI 161375 » a été croisé par diverses autres variétés tolérantes. Le tableau 3 présente les résultats obtenus après inoculation artificielle des $F_1$ et $F_2$. Nous n'avons pas observé de plantes sensibles ni dans les $F_1$, ni dans les $F_2$. Il semble donc que le déterminisme génétique de la résistance observée après inoculation artificielle soit le même pour toutes les lignées étudiées.

TABLEAU 3

*Proportion de plantes montrant des symptômes de mosaïque après contamination artificielle chez diverses lignées et leurs descendances $F_1$ et $F_2$ avec « PI 161375 »*

| Lignées et descendances $F_1$ et $F_2$ | | « PI 161375 » (Témoin résistant) | « Charentais » (Témoin sensible) |
|---|---|---|---|
| « LJ 34340 » | 0/66 | 0/66 | 47/48 |
| $F_1$ « LJ 34340 » × « PI 161375 » | 0/66 | 0/66 | 47/48 |
| $F_2$ (« LJ 34340 » × « PI 161375 »)$_1$ | 0/120 | 0/30 | 29/30 |
| « LJ 90389 » | 0/93 | 0/99 | 129/129 |
| $F_1$ « LJ 90389 » × « PI 161375 » | 0/36 | 0/36 | 18/18 |
| $F_2$ (« LJ 90389 » × « PI 161375 »)$_2$ | 0/358 | 0/63 | 111/111 |
| « LJ 90436 » | 0/97 | 0/99 | 119/120 |
| $F_1$ « PI 161375 » × « LJ 90436 » | 0/46 | 0/33 | 8/9 |
| $F_2$ (« PI 161375 » × « LJ 90436 »)$_2$ | 0/226 | 0/63 | 111/111 |
| « Ginsen makuwa » | 0/66 | 0/66 | 47/48 |
| $F_1$ « Ginsen » × « PI 161375 » | 0/66 | 0/66 | 47/48 |
| $F_2$ (« Ginsen » × « PI 161375 »)$_1$ | 0/120 | 0/30 | 29/30 |
| « Freeman's cucumber » | 2/241 | 1/55 | 91/91 |
| $F_1$ « Freeman's cucumber » × « PI 161375 » | 2/486 | 1/55 | 91/91 |

b) *Étude du croisement « PI 161375 » × « Charentais »*

La sensibilité au champ de la $F_1$ « PI 161375 » × « Charentais » est plus proche de celle du parent sensible que du résistant. En inoculation artificielle suivant les essais, la $F_1$ est aussi sensible que le parent sensible ou bien les symptômes apparaissent moins vite. Les différences observées entre les essais peuvent s'expliquer au moins partiellement par les différences de concentration en virion de l'inoculum : la contamination des parents et de la $F_1$ par une gamme de dilution de l'inoculum montre en effet que la réaction de la $F_1$ dépend de cette dilution (fig. 2).

Le recroisement de la $F_1$ par le parent « Charentais » sensible nous a donné une descendance entièrement sensible; son recroisement par le parent résistant a donné 848 plantes sensibles sur 993 inoculées.

L'étude de la $F_2$ et des $F_3$ a été conduite avec pour objectif la mise au point d'une méthode de sélection plutôt que l'analyse génétique de la résistance : aussi nos résultats sont-ils incomplets; par ailleurs l'observation des $F_3$ après infection artificielle a été faite en hiver à une période où du fait de mauvaises conditions climatiques « PI 161375 » présentait une proportion de plantes sensibles fluctuant selon les tests de 0 à 44 p. 100, rendant difficile la comparaison des $F_3$ testées dans des séries différentes, et impossible une analyse génétique fine.

Après inoculation artificielle de 456 plantes de la $F_2$, 34 n'ont pas manifesté de symptômes et ont été autofécondées. Parmi les 34 lignées $F_3$, 4 seulement étaient aussi résistantes que le parent « PI 161375 »; les mauvaises conditions de test ne permettaient pas de dire si les autres étaient en disjonction ou fixées pour un niveau de tolérance inférieur à celui de « PI 161375 ».

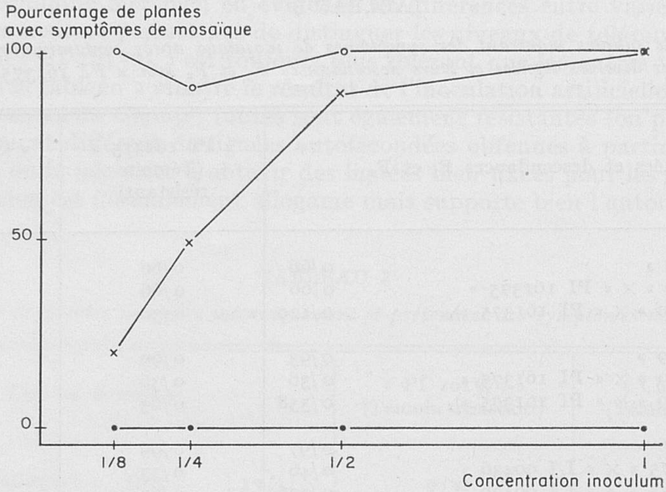



FIG. 2. — *Sensibilité des parents et de la $F_1$ suivant la concentration de l'inoculum en VMC*

o——o « Charentais »
×——× $F_1$ « PI 161375 » × « Charentais »
●——● « PI 161375 »

### 3. — *Introduction de la résistance au VMC dans le type variétal « Cantaloup Charentais »*

Il semble qu'au champ, en conditions naturelles d'infection, on mette en évidence des différences de sensibilité entre lignées qui ne sont pas visibles après inoculation artificielle (comparer fig. 1 et tabl. 2). Nous avons voulu savoir si le tri des plantes résistantes en $F_2$ était aussi efficace en inoculation artificielle qu'en plein champ.

Nous avons trié une $F_2$ « PI 161375 » × « Charentais » soit au champ, soit après inoculation artificielle; les plantes n'ayant pas montré de symptômes ont été autofécondées et les $F_3$ ont été comparées au champ en inoculation naturelle. Dans la $F_2$ sélectionnée au champ, 117 plantes ont été observées et 7 ont été conservées (soit 6 p. 100) qui ont donné 7 lignées $F_3$ ($F_3$-IN). Dans la $F_2$ sélectionnée après inoculation artificielle, sur 456 plantes, 34 ont été conservées (soit 7,5 p. 100). Parmi ces 34 lignées $F_3$, 7 ont été choisies au hasard ($F_3$-IA) et comparées au champ en 1974 avec les 7 $F_3$-IN.

Nous avons effectué à intervalles réguliers 5 notations de l'intensité des symptômes (note 0 : pas de symptômes visibles, à 2 : symptômes forts). La somme de ces notes constitue pour chaque plante une note moyenne de sensibilité qui peut varier de 0 à 10. Les observations réalisées, résumées dans le tableau 4 et la figure 3, montrent que le tri après inoculation artificielle est au moins aussi efficace que celui fait dans des conditions d'inoculation naturelle et peut donc être utilisé pour la sélection.

Nous avons choisi une méthode de sélection généalogique par rétrocroisement de plantes résistantes par le type « Charentais ». Lorsqu'on désire introduire une résistance à hérédité quantitative sous contrôle oligogénique dans un type variétal par la méthode des rétrocroisements, il importe de ne pas perdre un ou plusieurs

TABLEAU 4

*Observations faites en plein champ en 1974*

$\Sigma F_3$ IN : 7 lignées $F_3$ obtenues après le tri de plantes $F_2$ en infection naturelle.
$\Sigma F_3$ IA : 7 lignées $F_3$ obtenues après le tri de plantes $F_2$ en inoculation artificielle.

| | « PI 161375 » | « Charentais » | $\Sigma F_3$ IN | $\Sigma F_3$ IA |
|---|---|---|---|---|
| Note moyenne de sensibilité | 1,53 | 7,74 | 3,78 | 3,49 |
| Pourcentage de plantes sans symptômes le 10-7. . . | 98 | 2 | 38 | 54 |
| Pourcentage de plantes avec symptômes faibles le 30-7 . . . . . | 100 | 15 | 70 | 66 |

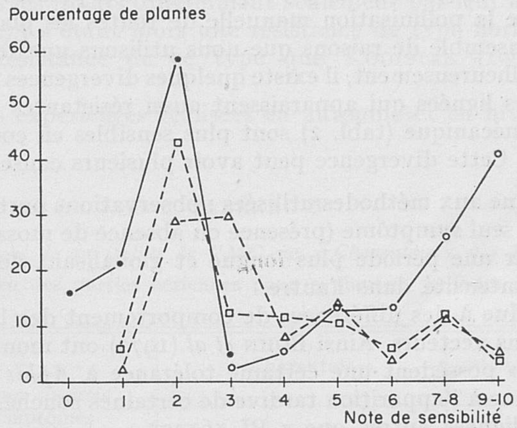



FIG. 3. — *Répartition des plantes suivant leur note de sensibilité. Observations au champ en 1974*

●———● « PI 161375 »
○———○ « charantais »
△------△ $\Sigma F_3$IN : 7 lignées $F_3$ obtenues après le tri des plantes $F_2$ en infection naturelle.
□------□ $\Sigma F_3$IA : 7 lignées $F_3$ obtenues après le tri des plantes $F_2$ en inoculation artificielle.

des facteurs de résistance en cours de sélection; ainsi dans notre analyse d'un croisement « Charentais » × « PI 161375 », sur 34 Plantes $F_2$ résistantes après inoculation artificielle, 4 seulement ont donné des lignées $F_3$ aussi résistantes que le géniteur de départ. Nous avons donc adopté le schéma suivant : les plantes d'une génération en disjonction, indemnes de symptômes après inoculation artificielle, sont à la fois autofécondées et croisées par une lignée de « Charentais ». La descendance issue d'autofécondation est inoculée et le recroisement avec le « Charentais » n'est utilisé pour un nouveau cycle de sélection que si cette descendance est aussi résistante que le géniteur « PI 161375 ».

En 1977, le troisième rétrocroisement avec une lignée « Charentais » devrait

être observé. Jusqu'ici, l'existence d'une liaison entre des caractères défavorables du géniteur « PI 161375 » (forte sensibilité à l'Oïdium, tardiveté, qualité très médiocre du fruit) et la résistance au VMC ne nous est pas apparue.

## Discussion

### 1. — *Comparaison entre infection naturelle et artificielle*

La sélection au champ est difficile car l'infection est irrégulière dans le temps et dans l'espace; la gravité des symptômes est difficile à apprécier en l'absence de témoin sain; la présence d'autres viroses ou d'autres parasites (acariens par exemple) peut gêner l'observation des symptômes.

Elle est matériellement coûteuse car la plante nécessite une surface importante (1 à 2 m²). Dans le cas d'une sélection généalogique il faut contrôler la pollinisation (le Melon est allogame); or, à l'époque de la floraison, l'infection n'est généralement pas suffisamment généralisée pour que le tri des plantes résistantes ait été fait ce qui entraîne la pollinisation manuelle de toutes les plantes.

C'est pour cet ensemble de raisons que nous utilisons une technique d'inoculation artificielle. Malheureusement, il existe quelques divergences entre les résultats : ainsi la plupart des lignées qui apparaissent aussi résistantes que « PI 161375 » après inoculation mécanique (tabl. 2) sont plus sensibles en conditions naturelles d'infection (fig. 1). Cette divergence peut avoir plusieurs causes :

— Elle peut être due aux méthodes utilisées : observations portant sur une courte durée et sur un seul symptôme (présence ou absence de mosaïque) dans un cas, observations sur une période plus longue et globalisant de nombreux symptômes et leur intensité dans l'autre.
— Elle peut être due à des différences de comportement des lignées vis-à-vis de certains pucerons vecteurs. Ainsi Bohn *et al.*(1973) ont montré que des lignées de « PI 161375 » possèdent une certaine tolérance à *Aphis gossypii*.
— Elle peut être due à l'apparition tardive de certaines souches de VMC capables d'attaquer les lignées autres que « PI 161375 ».
— Enfin, elle peut être due au Virus de la Mosaïque de la Pastèque (WMV II) dont Luis Arteaga *et al.* (1976) ont montré la présence en France. Les différences observées au champ proviendraient de différences de sensibilité à ce virus et non au VMC. Des travaux sont en cours pour confirmer ou infirmer ces deux dernières hypothèses.

### 2. — *Valeur de la résistance de « PI 161375 »*

Nous n'avons jamais observé dans notre collection de variétés de Melon des plantes résistantes par immunité ou par hypersensibilité. La résistance de « PI 161375 » est en fait une tolérance. Au champ, il apparaît tardivement des symptômes faibles de mosaïque. Les isolements effectués à partir de plantes de « PI 161375 » présentant des symptômes de mosaïque au champ sont positifs : ces plantes sont donc bien infectées par le VMC; les isolements effectués à partir des plantes sans symptômes après inoculation artificielle sont tantôt positifs, tantôt négatifs : des plantes de « PI 161375 » infectées par le virus peuvent donc

ne pas présenter de symptômes; la croissance de ces plantes n'est cependant pas affectée (tabl. 1). Ainsi il ne s'agit pas d'une tolérance au sens de SCHAFER (1971) où les plantes tolérantes ont des symptômes aussi importants que les plantes sensibles mais dont le rendement est peu ou pas modifié par la maladie. Par ailleurs nous n'avons pas le phénomène observé par KOOISTRA (1968) sur la variété de Concombre « Natsufushinari » infectée par le Cucumber Green Mottle Mosaic Virus : cette variété ne montre pas de symptômes bien que le virus existe dans la plante, mais sa croissance est aussi affectée que celle d'une variété sensible.

La résistance de « PI 161375 » est-elle uniforme, valable contre toutes les souches de VMC ou bien différentielle, active contre seulement certaines souches? Pour essayer de répondre à cette question, une inoculation artificielle a été faite avec 15 isolats choisis dans la collection réunie par QUIOT et coll. (Station de Pathologie végétale, I.N.R.A. Montfavet). Le tableau 5 présente les symptômes provoqués sur « Charentais » et « PI 161375 » et le poids moyen des plantes à la fin de l'essai (5 plantes sans répétition). Les isolats provoquant des symptômes sur « PI 161375 » sont les plus agressifs sur « Charentais » à l'exception de l'isolat I qui ne provoque qu'une mosaïque légère sur « Charentais ». Si cette exception était confirmée elle signifierait l'existence d'un pouvoir pathogène spécifique; si elle ne l'était pas les isolats différeraient seulement par leur agressivité, la tolérance de « PI 161375 » étant alors une résistance de type horizontal, non spécifique. C'est une résistance de ce type que KOOISTRA (1969) a étudié chez le Concombre.

Dans certaines expériences réalisées en automne et en hiver, notre géniteur

TABLEAU 5

*Effet comparé de 15 isolats de VMC sur « Charentais » et « PI 161375 »*

(P.F. : poids moyen des parties aériennes pour 5 plantes, 32 jours après inoculation)

| Isolats | *Vigna sinensis* Symptômes | « Charentais » | | « PI 161375 » | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | P.F. | Symptômes | P.F. | Symptômes |
| A . . . . . | o | 12,7 | o | 9,0 | o |
| B. . . . . . | Mosaïque | 10,8 | o | 10,6 | o |
| C. . . . . . | Lésions locales nécrotiques | 10,7 | o | 11,4 | o |
| D. . . . . . | — | 13,8 | Mosaïque | 12,1 | o |
| E . . . . . . | — | 10,8 | — | 9,0 | o |
| F. . . . . . | — | 11,4 | — | 13,2 | o |
| G = TL. . . | — | 12,6 | — | 11,0 | o |
| H . . . . . . | — | 8,6 | — | 12,1 | Mosaïque et rétablissement |
| I. . . . . . . | — | 13,2 | — | 9,6 | — |
| J. . . . . . . | — | 7,1 | — | 6,2 | Mosaïque |
| K . . . . . . | — | 9,7 | — | 6,1 | — |
| L. . . . . . . | — | 7,2 | — | 6,9 | — |
| M . . . . . . | — | 6,1 | — | 5,9 | — |
| N . . . . . . | — | 6,5 | — | 6,9 | — |
| O . . . . . . | — | 7,7 | — | 6,5 | — |

de résistance « PI 161375 » présente des symptômes après inoculation avec la souche TL. Ces symptômes n'apparaissent que sur la première ou les deux premières feuilles. Dans un essai les plantes ont été séparées en deux lots avant l'inoculation : l'un a été élevé dans les conditions normales de la serre et l'autre a reçu un éclairage d'appoint les jours de temps couvert. Après inoculation, les plantes « PI 161375 » du premier lot ont montré des symptômes de Mosaïque sur les premières feuilles alors que celles du second lot sont restées sans symptômes : des plantes tolérantes un peu chétives et étiolées peuvent donc montrer des symptômes; après inoculation ces plantes sont mises en chambre climatisée où elles ont de bonnes conditions de croissance, en particulier d'éclairage (10 000 lux), les symptômes de mosaïque n'apparaissent plus sur les jeunes feuilles formées dans ces conditions.

### 3. — *Hérédité de la résistance*

KARCHI *et al.* (1975) ont conclu de l'étude de leur géniteur « Freeman's cucumber » que la résistance au VMC était contrôlée par trois gènes récessifs. Nos résultats ne contredisent pas leur hypothèse si tout du moins on précise qu'il ne s'agit pas d'un phénomène de tout ou rien mais d'un phénomène quantitatif où des niveaux intermédiaires de résistance peuvent exister et où les phénomènes de dominance sont incomplets.

Il semble que les différentes variétés résistantes que nous avons étudiées possèdent le même mécanisme génétique de résistance.

Il est à remarquer que chez les autres Cucurbitacées, la résistance au VMC est également oligogénique. Chez le Concombre, l'hérédité de la résistance provenant des variétés « Chinese Long » ou « Tokyo Long green » a été attribuée à plusieurs gènes récessifs par PORTER (1932), à au moins 3 gènes dominants par SHIFRISS *et al.* (1942), à 3 gènes à dominance intermédiaire par KOOISTRA (1969) et à 1 gène dominant par WASUWAT et WALKER (1961)... Chez la Courge (*Cucurbita pepo*) il n'y a pas de bon niveau de résistance mais l'introduction de la résistance de *C. moschata* est possible. La résistance de la variété « Puerto Rico » (*C. moschata*) semble être gouvernée par au moins deux gènes récessifs (SHIFRISS et COHEN, 1974), mais la résistance de *C. moschata* n'est pas efficace vis-à-vis de tous les isolats du virus (MARROU *et al.*, 1975).

## Conclusions

Au cours de ce travail nous avons montré qu'il existait plusieurs variétés de Melon présentant une tolérance au Virus de la Mosaïque du Concombre. Le mécanisme génétique de cette résistance oligogénique semble le même pour toutes les variétés étudiées en inoculation artificielle.

La contamination artificielle de plantules par une souche appropriée permet de distinguer les plantes sensibles des plantes tolérantes et peut donc être utilisée dans un programme de sélection.

*Reçu pour publication en mai 1977.*

## Summary

*Resistance of Melon* (Cucumis Melo *L.*) *to Cucumber Mosaic Virus*

Among the viruses which can infect Cucurbitaceae, Cucumber Mosaic Virus (CMV) is the most important in France. Every year, melon crops, in South East France, are severely attacked.

1. — *Research of resistant lines*

In the fields some lines, in general from Asia exhibit weaker and later disease symptoms than « Cantaloup Charentais » lines, the most cultivated type in France. They are:

— « LJ 34340 », « 90279 », « 90389 », « 90436 » USDA La Jolla (California, U.S.A.).
— « Ginsen makuwa », « Kanro makuwa », « Nagata kim makuwa » from Japon.
— « Freeman's cucumber » supplied by S. COHEN (Israël).
— « Songwhan charmi » = « PI 161375 » from Corea supplied by the Southern Regional Plant Introduction Station (Georgia, U.S.A.).

The line « PI 161375 » appears as the most resistant (fig. 1). We have never observed hypersensitivity or immunity.

In artificial inoculation the susceptible plants exhibit mosaic symptoms and stunting (tabl. 1). Resistant lines exhibit no symptom.

2. — *Heredity of resistance*

The $F_1$ and $F_2$ progenies of the crosses between « PI 161375 » and the other resistant lines are uniformly resistant after artificial inoculation (tabl. 3). It appears that the same genetic mechanism controls CMV resistance of these lines.

In the field, the susceptibility of the $F_1$ « PI 161375 » × « Charentais » is near the « Charentais » parent. In artificial inoculation it depends particularly of the inoculum concentration (fig. 2). The study of the $F_2$ and $BC_1$ progenies shows that the resistance of « PI 161375 » is oligogenic.

3. — *Back-crossing the CMV resistance in the « Charentais » type*

We have compared in the field the $F_3$ lines resistance after $F_2$ plants selection in either artificial inoculation or natural contamination. Selection after artificial inoculation is at least as effective as after natural contamination (tabl. 4 and fig. 3) and we use this technique in our breeding program. We observe the third backcross in 1977.


## Références bibliographiques


BOHN G. W., KISHABA A. N., PRINCIPE J. A., TOBA H. H., 1973. Tolerance to Melon Aphid in *Cucumis melo L. J. Amer. Soc. hort. Sci.*, **98**, 37-40.

BOS L., 1969. Experience with a collection of plants viruses in leaf material dried and stored over calcium chloride and a discussion of litterature on virus preservation. *Meded. Fac. Landbouwwet. Gent.*, **34**, 875-887.

KARCHI Z., COHEN S., GOVERS A., 1975. Inheritance of resistance to Cucumber Mosaic Virus in Melons. *Phytophatology*, **65**, 479-481.

KOOISTRA E., 1968. Significance of the non appearance of visible disease symptoms in Cucumber (*Cucumis sativus L.*) after infection with Cucumis Virus 2. *Euphytica*, **17**, 136-140.

KOOISTRA E., 1969. The inheritance of resistance to Cucumis Virus 1 in Cucumber (*Cucumis sativus L.*). *Euphytica*, **18**, 326-332.

LUIS ARTEAGA M. P., QUIOT J. B., LEROUX J. P., 1976. Mise en évidence d'une souche de Watermelon Mosaic Virus (WMV. II) dans le Sud-Est de la france. *Ann. Phytopathol.* **8**, 347-353.

MARROU J. *et al.*, 1975. Caractérisation par la symptomatologie de quatorze souches du Virus de la Mosaïque du Concombre et de deux autres Cucumo-virus : tentative de classification. *Meded. Fac. Landbouwwet. Rijk. Univ. Gent.*, **40**, 107-121.

PORTER R. H., 1932. The reaction of cucumber to types of mosaic. *Iowa State College J. Sci.* **6**, 95-129.

SCHAFER J. F., 1971. Tolerance to plant disease. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **9**, 235-252.

SHIFRISS O., MYERS C. H., CHUPP C., 1942. Resistance to mosaic virus in Cucumber. *Phytopathology*, **32**, 773-784.

SHIFRISS C., COHEN S., 1974. An evaluation of $F_2$ populations from a cross between *Cucurbita pepo L.* and *C. moschata* Dutch. for resistance to Cucumber Mosaic Virus. *Euphytica*, **23**, 333-336.

WASVWAT S. L., WALKER J. C., 1961. Inheritance of resistance in Cucumber to Cucumber Mosaic Virus. *Phytopathology*, **51**, 423-428.

WEBB R. E., BOHN G. W., 1962. Resistance to cucurbit viruses in *Cucumis melo. Phytopathology*, **52**, 1221.

WHITAKER T. W., BOHN G. W., 1954. Mosaic reaction and geographic origin of accessions of *Cucumis melo L. Plant Dis. Rep.*, **38**, 838-840.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (5), 523-537.

# Etude de méthodes d'inoculation du Tournesol par *Sclerotinia sclerotiorum* et application à la sélection

Felicity VEAR et J. J. GUILLAUMIN*

*Station d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A.,*
*Domaine de Crouelle, 63100 Clermont-Ferrand*
** Station de Pathologie végétale, I.N.R.A.,*
*Domaine de Mon Désir, 63100 Clermont-Ferrand*

## Résumé

Dans le but de comparer la sensibilité de diverses variétés de Tournesol au champignon *Sclerotinia sclerotiorum*, les auteurs ont testé diverses méthodes d'inoculation. La méthode qui a été retenue consiste en l'apport de mycelium sur la face stérile du capitule, sans blessure. Les conditions et les limites de l'utilisation de cette méthode ont été étudiées : bien que très sensible aux conditions météorologiques, le test établit un classement variétal qui n'est modifié ni d'une année à l'autre, ni en fonction du stade phénologique de la plante.

Cette méthode a fait l'objet d'un début d'utilisation à des fins de sélection. On a noté des différences significatives entre hybrides et entre lignées, une relation entre la sensibilité des hybrides et celle des lignées à partir desquelles ils ont été obtenus, et une corrélation significative, avec le comportement des variétés au champ.

La proportion des descendances homogènes s'accroît au cours des autofécondations et l'héritabilité du caractère reste relativement élevée. La tolérance pourrait être gouvernée, en partie, par un caractère dominant, ce qui permettrait d'éliminer assez facilement des programmes de sélection, les lignées très sensibles au *Sclerotinia*.

## Introduction

La pourriture blanche provoquée par *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De By. = *Whetzelinia sclerotiorum* (Lib.) Korf et Dumont est l'une des affections cryptogamiques les plus dommageables sur le Tournesol (*Helianthus annuus* L.).

Le champignon se conserve dans le sol sous forme de sclérotes de grande taille (de 0,5 à 2 cm). La germination de ces organes peut, selon les conditions du milieu, revêtir deux modalités différentes :

*a*) au voisinage d'une plante sensible, le sclérote peut donner naissance à un

mycelium capable d'infecter le collet de la plante. Ces infections du collet débutent précocement (dès début juin) et peuvent se poursuivre tout au long de la saison de végétation,

*b*) les sclérotes sont également susceptibles de donner naissance à la forme sexuée, constituée par des apothécies en forme de coupes pédicellées. Le pied de l'apothécie traverse quelques millimètres de terre, à la surface du sol, son extrémité s'épanouit en une coupe, porteuse d'un hymenium constitué d'asques à 8 ascospores. A la maturité des asques, les ascospores sont éjectées au-dessus de l'apothécie, puis reprises par le vent. Elles sont responsables des infections qui se produisent en milieu de tige ou sur le capitule. Ces attaques, plus groupées dans le temps et plus tardives que les infections de collet, surviennent à la fin de l'été.

La résistance absolue à la pourriture blanche est inconnue chez l'espèce Tournesol. Toutefois, dans les conditions du champ, les différentes variétés ne présentent pas le même comportement face à la maladie. Certaines sont régulièrement plus attaquées que d'autres. Il existe probablement une résistance relative, de type « horizontal », dépendant de l'état de la plante et de son âge: des inoculations sur plantules nous ont montré une sensibilité élevée et sans rapport avec les attaques naturelles (VEAR, non publié).

Ces différences de sensibilité au stade adulte furent signalées par PUTT dès 1958, confirmées par LECLERCQ (1973) et KROEZE (1974). Mais les études de ces auteurs ne portaient que sur des plantes victimes d'infections naturelles, cultivées dans des champs particulièrement contaminés.

LECLERCQ, s'intéressant aux attaques sur capitules, a montré qu'une partie des différences variétales pouvait s'expliquer par des différences dans la taille, les variétés les plus courtes étant plus attaquées. Mais cet auteur reconnaissait que l'influence de la taille (qui s'explique sans doute par la rareté en altitude des ascospores émises au niveau du sol) ne rendait pas compte de toute la variabilité enregistrée.

Nous avons cherché à mettre au point des méthodes d'infection artificielle permettant, à des fins de sélection, de mesurer la résistance « intrinsèque » des plantes (c'est-à-dire la résistance des tissus à la pénétration et /ou à la progression du mycelium), sans être tributaire du potentiel d'inoculum et des conditions de l'environnement.

Au niveau du capitule, bien que les ascospores constituent l'élément contaminant primaire, les tentatives d'inoculation de tissus vivants par des ascospores se traduisent très généralement par des échecs (GUILLAUMIN, non publié, LAMARQUE, comm. pers.). Il est vraisemblable que le *Sclerotinia* se développe tout d'abord sur un substrat formé de tissus morts ou sénescents, qui constituent un « relai » à partir duquel une masse mycélienne plus importante devient capable, grâce aux exoenzymes qu'elle sécrète, de coloniser les tissus vivants (ce comportement de « perthophyte » a été démontré dans le cas du *Botrytis cinerea*, autre agent de pourriture du Tournesol, par COURTILLOT *et al.* (1973) et par GUILLAUMIN *et al.* (1974)). Nous avons donc tenté d'effectuer les inoculations sur capitules au moyen d'implants mycéliens d'une taille suffisante, mimant les relais saprophytiques naturels.

Au niveau du collet, les inoculations ont été effectuées par simple dépôt de sclérotes, conformément au processus naturel.

## I. — Matériel et méthodes

### A. — *Méthodes*

1) *Inoculation des capitules*

a) *Sans blessure*

La méthode choisie est adaptée de celle préconisée par l'un d'entre nous (Guillaumin *et al.*, 1974) pour le *Botrytis* du Tournesol; le champignon est cultivé en boîtes de Petri sur 40 ml d'un milieu contenant par litre 12 g d'agar, 10 g d'extrait de malt, 0,625 g de $MgCO_3$ et 0,25 g de $Ca_3(PO_4)_2$. La température d'incubation est de 20 °C.

L'inoculum consiste en des pastilles de 10 mm de diamètre, découpées à l'aide d'un emporte-pièce sur la marge d'un thalle âgé de 4 jours. Ces pastilles sont placées sur la face stérile du capitule (du côté du pédoncule) et maintenues en place par un morceau de ruban adhésif. On procède pour chaque capitule, à 3 répétitions disposées en triangle. Dans le cas des descendances homogènes, chaque série comporte 6 capitules, soit 18 répétitions.

Les inoculations sont effectuées sur des plantes entières au champ et sur des capitules maintenus en survie en chambre climatisée. Au champ, les capitules sont enfermés dans des sacs de polyéthylène opaques maintenant l'obscurité et une humidité saturante. En chambre climatisée, la température est maintenue à 18 °C, les capitules trempent dans des bacs emplis d'eau et sont recouverts par des bâches de polyéthylène.

Les notations sont généralement effectuées 3 jours après inoculation en chambre climatisée et 4 jours après inoculation au champ. La grandeur que l'on mesure est la vitesse de progression du mycelium dans les tissus parenchymateux du capitule : les taches de pourriture apparues autour des points d'inoculation sont décalquées sur une feuille de polyéthylène transparente, la surface de la copie est ensuite mesurée. Trois méthodes d'évaluation de la surface ont été testées :

(1) découpage de la copie et pesée;

(2) obscurcissement de la silhouette et mesure de la surface au planimètre optique;

(3) mesure de deux diamètres perpendiculaires.

Cette troisième méthode, beaucoup plus rapide, a fourni des résultats très proches des chiffres obtenus par pesée (corrélation avec la méthode par pesée : $r = 0,99$). Elle a donc finalement été adoptée.

b) *Inoculation avec blessure*

La méthode utilisée est inspirée de la méthode de Koukine reprise par Cuk (1974) : le *Sclerotinia* est d'abord cultivé sur des fragments de carottes, à 18 °C et à l'obscurité. Après 10 jours de culture, des morceaux de bois ayant la dimension d'une allumette sont enfoncés dans les carottes. Ces fragments, colonisés à leur tour par le champignon, sont prélevés 10 jours après leur dépôt.

L'inoculation est effectuée en enfonçant ces baguettes dans l'épaisseur des tissus parenchymateux du capitule, sur environ 1 cm ½ de profondeur, du côté du pédoncule.

Comme dans le cas précédent, les inoculations sont effectuées au champ sur

plantes entières et en chambre climatisée sur capitules en survie. Les conditions d'incubation et de lecture des résultats sont les mêmes que pour la méthode sans blessure.

2) *Inoculations au collet*

L'inoculation consiste dans l'apport, au pied de chaque plante, de 4 sclérotes de taille moyenne (pesant de 0,2 à 0,4 g chacun), Ces sclérotes sont placés 5 cm en dessous du collet, au contact du pivot, sans blessure du système racinaire.

Les sclérotes utilisés, d'origine naturelle, avaient subi un séjour au froid (3 mois à 4°C).

Les observations sont effectuées 15 jours, 1 mois et 2 mois après inoculation. L'infection est considérée comme positive quand une tache de pourriture brun clair apparaît au contact du collet, remontant dans la tige. Contrairement au test capitule, il n'est pas possible d'apprécier la sensibilité par la mesure d'une variable continue, le comportement de chaque variété est caractérisé simplement par le pourcentage de réussite de l'infection.

### B. — *Isolats*

Nous avons utilisé les isolats SC5 (1974), SC6 (1975) et SM2 (1976), tous trois issus d'attaques naturelles de *Sclerotinia* sur Tournesol. La diminution d'agressivité provoquée par un maintien trop prolongé en culture pure justifiait ce changement d'isolat, opéré chaque année. Par ailleurs, la nature « horizontale » de la résistance (c'est-à-dire l'absence d'interaction entre le génotype de l'hôte et celui du pathogène) nous autorisait à effectuer ce changement.

Les sclérotes utilisés pour les inoculations au collet, étant d'origine naturelle (obtenus au moment du battage par tri à partir d'un lot de graines contaminé) présentent vraisemblablement une certaine hétérogénéité génétique. Il est à noter que des sclérotes obtenus en culture pure, de petite taille et non vernalisés, ont donné des résultats beaucoup plus irréguliers, l'échec pouvant être attribué soit à l'absence de séjour au froid, soit aux dimensions plus réduites des sclérotes.

## II. — Résultats

### A. — *Comparaison de méthodes d'inoculation*

Ils apparaissent sur les tableaux 1 (comparaison des méthodes avec et sans blessure, sur capitule, sur 4 variétés), 2 (inoculation de 13 lignées sur capitule, sans blessure, au champ et en chambre climatisée et 3 (comparaison de l'inoculation au collet et de l'inoculation sur capitule, sur 4 variétés). Ces résultats permettent de tirer les conclusions suivantes :

1° Les inoculations sur capitules font apparaître des différences significatives dans la sensibilité des variétés.

2° Les méthodes utilisant des bûchettes et des pastilles de gélose amènent au même classement des variétés, mais la méthode par pastilles de gélose (sans blessure), donne des résultats beaucoup plus réguliers. L'hétérogénéité des résultats obtenus avec les bûchettes est peut être due à un effet inhibiteur des blessures

TABLEAU 1

*Inoculations sur capitule avec et sans blessures* (14-8-75)

| Variétés | Avec blessure | | | Sans blessure | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Champ | Chambre | | Champ | | Chambre | |
| | Réussite inoculations (/18) | Réussite inoculations (/18) | Surface taches ($mm^2$) | Réussite inoculations (/18) | Surface taches ($mm^2$) | Réussite inoculations (/18) | Surface taches ($mm^2$) |
| « INRA 4701 » . | 0 | 0 | — | 2 | 12,1 | 17 | 88,0 |
| « Rémil » . . . . | 0 | (*a*) 9 | (*a*) 41,8 | 11 | 88,0 | (*a*) 17 | (*a*) 126,5 |
| | | (*b*) 9 | (*b*) 36,3 | | | (*b*) 18 | (*b*) 172,7 |
| « CPK34×Rha265 » | 1 | 15 | 141,9 | 12 | 157,3 | 18 | 239,8 |
| « Peredovik » . . | 1 | | | 13 | 308,0 | | |

Note : il y avait 2 séries d'inoculation sur « Rémil » : (*a*) et (*b*).

TABLEAU 2

*Inoculations sur capitule sans blessures*
(*au champ et en chambre climatisée sur 13 lignées pures*)

| Champ 4 jours | | | Chambre 3 jours | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Lignées | Surface ($mm^2$) | Groupes | Lignées | Surface ($mm^2$) | Groupes |
| Bc 251 . . . . . | 204,6 | a | Bc 251 . . . . . | 245,3 | a |
| CHIR 3. . . . . | 271,7 | a | CHIR 3. . . . . | 305,8 | a b |
| Bz a2. . . . . . | 501,6 | b | CAD 62. . . . . | 344,3 | a b c |
| CY 21 . . . . . | 552,2 | b c | Bc 252 . . . . . | 348,7 | a b c |
| Bc 253 . . . . . | 602,8 | b c | CY 21 . . . . . | 397,1 | b c d |
| Bc 252 . . . . . | 609,4 | b c | CVH 11. . . . . | 419.1 | c d |
| CAD 62 . . . . . | 657,8 | c | CVH 62. . . . . | 467,5 | d e |
| Rha 265 . . . . . | 710,6 | c | Rha 265 . . . . . | 469,7 | d e |
| CVH 11 . . . . . | 712,8 | c d | Bc 253 . . . . . | 524,7 | e f |
| CVH 62 . . . . . | 735,9 | c d | CPM 2 . . . . . | 530,2 | e f |
| CIS 2. . . . . . | 735,9 | c d | CIS 2. . . . . . | 596,2 | f |
| Rha 266 . . . . . | 753,5 | c d | Bza 2. . . . . . | 605,0 | f |
| CPM 2 . . . . . | 861,3 | d | Rha 266. . . . . | 718,3 | g |
| PPDS = 149,6 | | | PPDS = 105,6 | | |

Corrélation champ-chambre : $r = 0{,}68$ 12 ddl T = 3,24 (H.S.).

TABLEAU 3

*Inoculations au collet par sclérotes (1976)*
*et comparaison avec les inoculations sur capitule sans blessure*

| Variétés | Inoculations au collet par sclérotes | | | | | (*) Inoculations sur capitules | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Résultats après 1 mois | | | Résultats après 2 mois | | | |
| | Nombre de plantes atteintes (sur 140) | % | Groupes | Nombre de plantes atteintes (sur 100) | Groupes | Surfaces (en mm²) | Groupes |
| « INRA 4701 ». . | 14 | 10 | a | 24 | a | 317,8 | a |
| « CHIR 3 × Bc 251 . | 37 | 26 | b | 50 | b c | 408,6 | a |
| « Peredovik » . . | 37 | 26 | b | 42 | a b | 617,9 | b |
| « CPM 2 × Rha 266 » | 43 | 30 | b | 66 | c | 1 604,2 | c |

(F variétés = 155, T.H.S. ppds 5 % = 131,6).
(*) Inoculations en plein champ, lecture après 5 jours, moyenne sur 90 répétitions.

(libération de substances fongitoxiques par les cellules lésées), mais peut être aussi à une inégale colonisation des bûchettes par le champignon.

3° Le tableau 2 montre que les inoculations effectuées au champ et en chambre de culture fournissent des classements variétaux peu différents (coefficient de corrélation entre les 2 séries de résultats, $r = 0{,}68$ pour 13 couples).

4° Les inoculations par sclérotes au collet permettent également de mettre en évidence des différences significatives entre variétés, bien que l'emploi d'une méthode de « tout ou rien » rende le test moins performant qu'au niveau des capitules, où l'on opère sur une variable continue.

Pour les quatre variétés testées, le classement obtenu est à peu près le même que celui établi par inoculation des capitules. Notre échantillon est trop réduit pour que cette constatation soit généralisable.

Ces premiers résultats nous ont amenés à choisir, pour la sélection, la méthode d'inoculation sans blessure sur capitules. Il était évidemment préférable d'opérer en plein champ, sur plantes entières, afin de pouvoir étudier plus rapidement un plus grand nombre de génotypes. Nous avons donc été amenés à étudier les conditions d'utilisation en plein champ de cette technique, et à rechercher ses limites.

### B. — *Étude des conditions d'utilisation de la méthode d'inoculation*

#### 1) *Influence des conditions météorologiques*

Des inoculations ont été effectuées quotidiennement, pendant une période de 18 jours (du 19/8 au 7/9/1976), sur les variétés « INRA 4701 » et « Peredovik ». Les résultats en sont donnés par la figure 1. Par ailleurs, chaque jour ont été notées

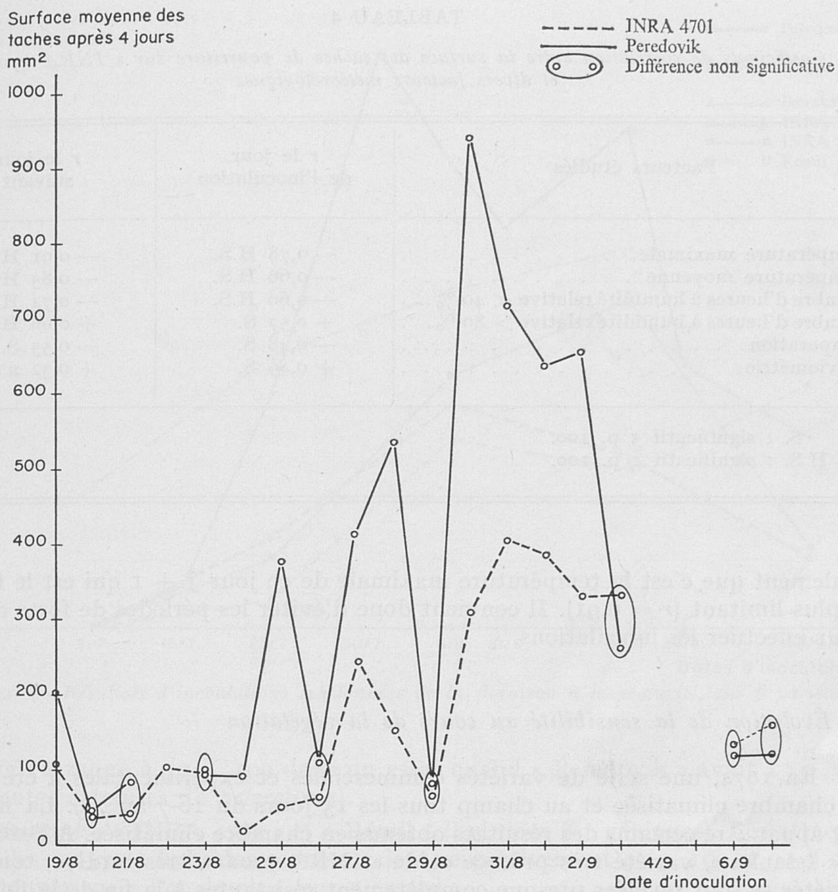



FIG. 1. — *Résultats d'inoculations quotidiennes sur les capitules de « INRA 4701 » et « Peredovik » entre le 19 août et le 7 septembre 1976.*

les valeurs de 6 facteurs météorologiques : température maximale, température moyenne, évaporation, pluviométrie, nombre d'heures à humidité relative < 40 p. 100, nombre d'heures à humidité relative > 80 p. 100.

La figure 1 montre que le test, quand il est effectué en plein champ, donne des résultats qui varient dans le temps. Toutefois, la variété « INRA 4701 » reste en règle générale significativement plus tolérante que « Peredovik ». Nous avons tenté d'expliquer les exceptions à cette règle par l'étude des conditions météorologiques qui avaient sévi pendant la période d'inoculation.

Nous avons calculé les coefficients de corrélation entre d'une part les résultats des inoculations (surface des taches après 4 jours d'incubation) et d'autre part les valeurs des différents facteurs météorologiques, le jour de l'inoculation et le jour suivant. Les valeurs des coefficients de corrélation pour la variété « INRA 4701 » sont regroupées dans le tableau 4.

Ce tableau montre que le résultat de l'inoculation dépend des conditions du jour suivant beaucoup plus que de celles du jour même de l'inoculation. Il apparaît

TABLEAU 4

*Coefficients de corrélation entre la surface des taches de pourriture sur « INRA 4701 » et divers facteurs météorologiques*

| Facteurs étudiés | $r$ le jour de l'inoculation | $r$ le jour suivant |
|---|---|---|
| Température maximale | — 0,78 H.S. | — 0,91 H.S. |
| Température moyenne | — 0,66 H.S. | — 0,85 H.S. |
| Nombre d'heures à humidité relative $< 40$ % | — 0,60 H.S. | — 0,74 H.S. |
| Nombre d'heures à humidité relative $> 80$ % | + 0,57 S. | + 0,66 H.S. |
| Évaporation | — 0,48 S. | — 0,55 S. |
| Pluviométrie | + 0,49 S. | + 0,32 n.s. |

S. : significatif 5 p. 100.
H.S. : significatif 1 p. 100.

également que c'est la température maximale de ce jour J + 1 qui est le facteur le plus limitant ($r = 0,91$). Il convient donc d'éviter les périodes de forte chaleur pour effectuer les inoculations.

2) *Évolution de la sensibilité au cours de la végétation*

En 1974, une série de variétés commerciales et expérimentales a été testée en chambre climatisée et au champ tous les 15 jours du 16-7 au 7-9. La figure 2 fait apparaître certains des résultats obtenus en chambre climatisée. A l'exception d' « Issanka », variété très précoce et de « INRA 7702 », très tardive, toutes les variétés se sont révélées presque complètement résistantes à la fin de la floraison, au mois de juillet, et ont montré une période de sensibilité maximale du 30-7 au 20-8. Pendant cette période et même après pour « Peredovik », « INRA 4701 » et « INRA 6501 », la hiérarchie des variétés s'est maintenue. « INRA 4701 » restait la variété la plus résistante et « Peredovik » la plus sensible. La période de sensibilité maximale pour « Issanka » commençait légèrement plus tôt et pour « INRA 7702 » plus tard.

Le test peut donc être appliqué dans nos conditions pendant tout le mois d'août et au début du mois de septembre, ce qui correspond à la période de maturation du capitule avant son desséchement. Cette période est suffisamment longue pour qu'une gamme assez large de génotypes puisse être testée.

3) *Comparaison des classements variétaux d'une année à l'autre*

Pour déterminer si les comportements relatifs des variétés se maintenaient d'année en année et pour étudier plus en détail les différences entre elles, en 1975 nous avons testé 4 variétés dont le comportement vis-à-vis des attaques naturelles était connu :

*Sensibles :* « Peredovik » (population) et « CPK34 × Rha265 » (hybride expé-

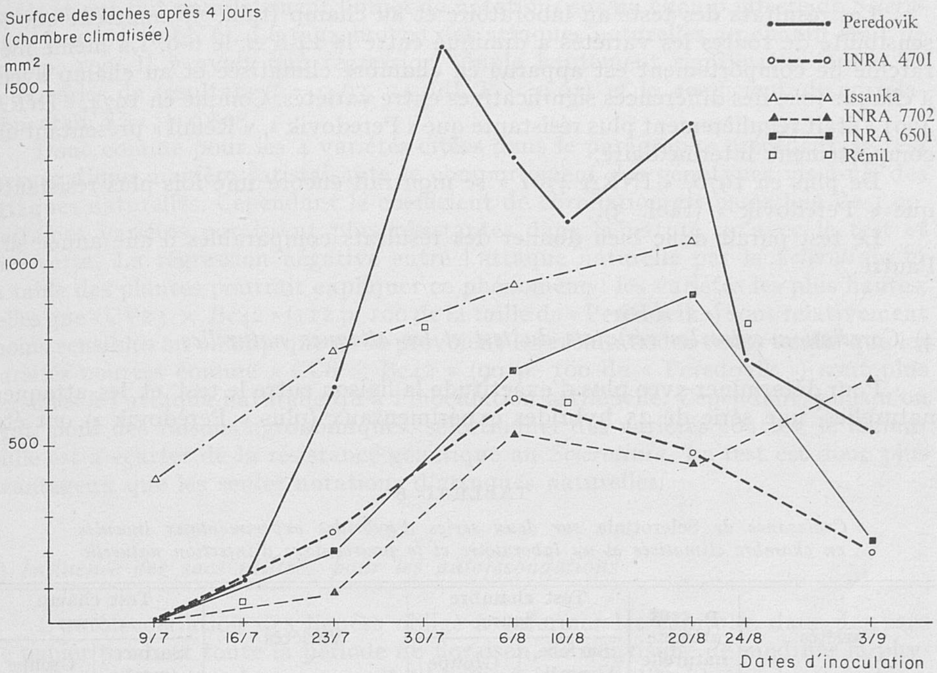



FIG. 2. — *Résultats d'inoculations échelonnées de la floraison à la maturité, sur 6 variétés.*

rimental, attaqué à 37 p. 100 dans un essai quand « Peredovik » avait 13 p. 100 des plantes atteintes de *Sclerotinia*).

*Résistants :* « INRA 4701 » et « Rémil » (hybrides $F_1$, géniques). Les attaques naturelles sur ces 2 hybrides représentaient respectivement 47 p. 100 et 64 p. 100 des attaques sur « Peredovik » (sur 5 essais).

TABLEAU 5

*Croissance de Sclérotinia sur les 4 variétés témoins (mm²)*

| Date des inoculations | 14-8 | | 23-8 | | 6-9 |
|---|---|---|---|---|---|
| Variété / Endroit | Chambre 4 jours | Champ 4 jours | Chambre 3 jours | Champ 4 jours | Chambre 3 jours |
| « INRA 4701 » . . . . | 700 ± 80 | 110 ± 80 | 350 ± 130 | 0 | 180 ± 20 |
| « Rémil » . . . . . . | (*a*) 1 150 ± 140 | 700 ± 170 | 290 ± 70 | 490 ± 90 | 210 ± 30 |
| | (*b*) 1 570 ± 200 | | | | |
| « CPK 34 Rha 265 » . | 2 180 ± 120 | 1 430 ± 300 | 830 ± 60 | 210 ± 50 | 270 ± 30 |
| « Peredovik » . . . . . | | 2 800 ± 590 | 710 ± 150 | 710 ± 70 | 420 ± 30 |

Note : il y avait deux séries d'infections sur « Rémil » le 14-8 en chambre : (*a*) et (*b*).

Les résultats des tests au laboratoire et au champ (tabl. 5) montrent que la sensibilité de toutes les variétés a diminué entre le 14-8 et le 6-9. La même hiérarchie de comportement est apparue en chambre climatisée et au champ avec, à chaque fois, des différences significatives entre variétés. Comme en 1974, « INRA 4701 » était régulièrement plus résistante que « Peredovik », « Rémil » présentant un comportement intermédiaire.

De plus en 1976, « INRA 4701 » se montrait encore une fois plus résistante que « Peredovik » (tabl. 3).

Le test paraît donc bien donner des résultats comparables d'une année sur l'autre.

4) *Corrélation entre les résultats du test et les attaques naturelles*

Pour déterminer avec plus d'exactitude la liaison entre le test et les attaques naturelles, une série de 25 hybrides expérimentaux (plus « Peredovik ») ont été

TABLEAU 6

*Croissance de* Sclerotinia *sur deux séries d'hybrides expérimentaux inoculés en chambre climatisée et au laboratoire et le pourcentage d'infection naturelle*

| Variétés | p. cent attaque naturelle | Test chambre 3 jours | | Variétés | Test champ 4 jours | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Surface ($mm^2$) | Groupe | | Surface ($mm^2$) | Groupe |
| CAD 62 BC 251 . | 23,6 | 139,7 | a | CHIR 3 BC 42 . . | 144,1 | a |
| CAD 62 Rha 265 . | 26,7 | 150,7 | a | CAD 62 Bz a1 . . | 225,5 | a b |
| CAD 62 Bz a1 . . | 6,1 | 162,8 | a b | CHIR Bz a2 . . . | 269,5 | b c |
| CAD 62 BC 252. . | 33,2 | 184,8 | a b c | CAD 62 Rha 265 . | 283,8 | b c d |
| CAD 64 BC 42 . . | 16,7 | 191,4 | a b c | INRA 4701. . . . | 305,8 | b c d e |
| CHIR 3 Bz a2 . . | 34,2 | 118,0 | a b c | CAD 62 BC 252 . | 312,4 | b c d e |
| CPM 2 BC 253 . . | 36,6 | 211,2 | a b c d | CC 8 BC 42 . . . | 322,3 | b c d e |
| INRA 4701. . . . | 15,1 | 222,2 | a b c d | CAD 64 BC 42 . . | 376,2 | c d e f |
| Remil . . . . . | 22,3 | 250,2 | a b c d | CPM 2 BC 253 . . | 389,6 | d e f |
| CC8 BC 42. . . . | 51,9 | 270,6 | b c d | CVH 11 BC 42. . | 416,9 | e f g |
| CHIR 3 BC 42 . . | 13,6 | 287,1 | c d e | CPM 2 BC 251 . . | 438,0 | f g |
| CPK 34 Rha 265 . | 23,5 | 327,8 | d e f | CV 23 BC 42. . . | 523,6 | g |
| CV 23 BC 42. . . | 16,4 | 412,7 | e f g | CPM 2 Rha 266 . | 645,7 | h |
| CVH 11 BC 42 . . | 10,2 | 420,2 | f g | | | |
| CPM 2 BC 251 . . | 14,9 | 452,1 | g | | | |
| Peredovik . . . . | 29,6 | 500,5 | g h | | | |
| CPM 2 Rha 266 . | 32,4 | 600,6 | h | | | |
| ppds. . . | | 118,8 | | ppds. . . . | 114,4 | |
| CAD 62 CVH 62 . | 21,9 | 202,4 | a | CY 21 CAD 62. . | 167,2 | a |
| CY 21 CAD 62. . | 61,8 | 523,6 | b | CAD 62 CVH 62 . | 213,4 | a b |
| CIS 2 CY 21. . . | 32,7 | 590,7 | b c | CVH 62 CIS 2 . . | 260,7 | a b c |
| CY 21 CVH 62. . | 9,4 | 633,6 | b c | CIS 2 CY 21. . . | 270,6 | a b c d |
| CY 21 CIS 2. . . | 38,7 | 751,3 | b c | CVH 62 CY 21. . | 279,4 | a b c d |
| CVM 62 CY 21. . | 26,8 | 819,5 | c | CY 21 CIS 2. . . | 326,7 | c d |
| CVM 62 CIS 2 . . | 50,8 | 831,6 | c | CY 21 CVH 62. . | 378,4 | c d |
| CAD 62 CIS 2 . . | 71,4 | 834,9 | c | CIS 2 CAD 62 . . | 405,9 | c d |
| CIS 2 CAD 62 . . | 71,2 | 1 357,4 | d | CAD 62 CIS 2 . . | 418,0 | d |
| ppds. . . | | 253,0 | | ppds. . . | 154,0 | |

testés et ont fait parallèlement l'objet de notations sur un champ infesté de *Sclerotinia* en 1975 (tabl. 6). Le taux moyen des attaques naturelles au champ était de 30,5 p. 100. Il y avait une régression simple hautement significative entre les deux séries de résultats ($t = 3{,}63$, 24 ddl, $P < 0{,}01$) et le coefficient de corrélation était $r = + 0{,}595$.

Donc comme pour les 4 variétés citées dans le paragraphe précédent, le test mesure d'une manière satisfaisante le comportement des génotypes vis-à-vis des attaques naturelles. Cependant le coefficient de corrélation est assez loin de 1,00. Certaines variétés paraissent plus résistantes dans la nature qu'avec le test et vice-versa. La régression négative entre l'attaque naturelle par le *Sclerotinia* et la taille des plantes pourrait expliquer ce phénomène : les variétés les plus hautes, telles que « CV23 × Bc42 » (112 p. 100 de la taille de « Peredovik ») sont relativement moins sensibles au champ que ne le prévoient les résultats des tests, tandis que les variétés courtes comme « CC8 × Bc42 » (90 p. 100 de « Peredovik ») sont plus sensibles à l'attaque naturelle qu'à l'inoculation artificielle. Cependant, puisqu'on veut, pour des raisons agronomiques, sélectionner des variétés courtes, le facteur taille est à écarter de la résistance génétique au *Sclerotinia*. Le test est donc plus avantageux que les seules notations d'attaques naturelles.

### 5) *Influence des sacs utilisés pour les autofécondations*

L'autofécondation des lignées oblige à enfermer les capitules dans des sacs de papier pendant toute la période de floraison, ce qui risque de modifier la physiologie de la plante, donc sa sensibilité. Pour juger de l'incidence de ce facteur, nous avons, sur les 2 variétés « Peredovik » et « INRA 4701 », comparé la sensibilité de plantes dont les capitules ont été enfermés dans des sacs pendant la floraison (1 mois ½) à celle de plantes témoins. Le tableau 7 rend compte des résultats obtenus.

TABLEAU 7

*Influence des sacs de papier utilisés pour les autofécondations.*
*Croissance du Sclerotinia au champ après 4 jours* (en mm²)

| Variétés | « INRA 4701 » | « Peredovik » |
|---|---|---|
| Avec sacs . . . . . . . . . | 108,3 | 204,2 |
| Sans sacs . . . . . . . . . | 178,0 | 293,9 |

Effet variétés hautement significatif . . . . . . . . (F = 6,97)
Effet sacs significatif . . . . . . . . . . . . . . . (F = 3,96)
Interaction non significative . . . . . . . . . . . . (F = 0,06)

Les plantes enfermées dans les sacs d'autofécondation sont significativement moins sensibles que les plantes témoins. Mais « Peredovik » reste, dans les deux cas, significativement plus sensible que « INRA 4701 ».

### C. — *Application à la sélection*

#### 1) *Différences entre génotypes*

Le tableau 6 montre des différences hautement significatives dans les vitesses de progression du *Sclerotinia* sur les capitules des différents hybrides, en plein champ comme en chambre climatisée. Il existe donc des différences génétiques pour ce caractère.

Comparé avec les hybrides expérimentaux « Peredovik » était l'une des plus mauvaises variétés, tandis qu'au champ deux hybrides étaient significativement meilleurs que « INRA 4701 ». On peut donc penser qu'une sélection pour des variétés présentant une résistance au *Sclerotinia* accrue sera possible.

Les tests portant sur des lignées, parents de ces hybrides (tabl. 2), ont montré des différences hautement significatives entre génotypes, du même ordre que celles entre hybrides. « BC 251 », la lignée la plus résistante était un parent du meilleur hybride (« CAD 62 × BC 251 ») et les 2 parents les plus sensibles, « CPM 2 » et « Rha 266 » donnaient l'hybride le plus sensible. Ces résultats suggèrent qu'une sélection ayant pour objectif d'augmenter la résistance des hybrides au *Sclerotinia* peut prendre pour point de départ l'amélioration des lignées pour ce caractère.

#### 2) *Premières utilisations en sélection*

Nous avons commencé une sélection à partir de lignées et hybrides $F_1$, qui se sont montrés satisfaisants vis-à-vis des attaques naturelles. A partir des descendances $F_2$ ou $F_3$, 15 à 20 plantes par descendance sont inoculées et après notation de la croissance du *Sclerotinia* nous récoltons celles qui ont au moins le niveau de résistance de « INRA 4701 », inoculé le même jour. Bien que le *Sclerotinia* s'installe sur presque toutes les plantes, les graines peuvent être récoltées sans problème sur les plus résistantes dans les quinze jours qui suivent l'infection.

Sur le tableau 8 sont portés les résultats des tests en 1976 de descendances de quatre origines : « CVH 6 × CHIR 3 », « CY 21 × Bzal », BG 2 × HA 61 » et « ADA 4 × AN 75 ». Dans tous les cas les générations précédentes n'avaient pas été testées pour la résistance au *Sclerotinia*, seule une sélection pour la teneur en huile avait été faite sur les familles $F_3$ dont sont issues les descendances $F_4$.

On peut noter que la plupart des descendances montrent des différences significatives entre plantes, mais que la proportion des descendances homogènes s'accroît avec le nombre d'autofécondations. Un certain niveau de résistance pourrait ainsi être sélectionné et fixé en 4 ou 5 générations.

En 1976, avec une barrière de sélection au niveau de « INRA 4701 » et en tenant compte des autres caractères agronomiques (résistance au mildiou, teneur en huile, etc) la pression de sélection était forte. Par exemple, parmi les $F_3$ 7,5 p. 100 des plantes étaient retenues et la vitesse de progression moyenne du *Sclerotinia* sur les plantes sélectionnées correspondait à 25 p. 100 de la moyenne générale de l'ensemble des $F_3$ et à 49 p. 100 de la moyenne sur « INRA 4701 ». Cependant, l'efficacité de cette pression est fonction de l'héritabilité du caractère.

Pour les résultats de 1976 nous avons appelé « héritabilité » le rapport $\frac{\sigma 2_{\text{plantes}}}{\sigma 2_{\text{total}}}$.

TABLEAU 8

*Résultats des inoculations sur des descendances à sélectionner pour la résistance au Sclerotinia*
*Surfaces des taches en p. 100 du témoin INRA 4701*

| Descendance | Moyenne générale | Nombre de descendances hétérogènes | Moyennes des descendances extrêmes | Moyennes des plantes extrêmes | p. cent de plantes sélectionnées | Moyenne des plantes sélectionnées | Héritabilité moyenne | Moyennes des descendances homogènes |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CVH6 × CHIR3 (Parent ♀ 210, Parent ♂ 137) | | | | | | | | |
| $F_2$ | 70 | 1/1 | | 298- 0 | 31,6 | 10,0 | 59,6 | |
| CAD62 × Bc252 (Parent ♀ 155, Parent ♂ 157) | | | | | | | | |
| $F_3$ | 82 | 1/1 | | 157-42 | 11,1 | 52,0 | 66,6 | |
| $F_4$ | 121 | 3/5 | 177-68 | 356-19 | 4,3 | 44,8 | 32,3 | 68-125 |
| CY21 × Bzal (Parent ♀ 179) | | | | | | | | |
| $F_3$ | 85 | 4/4 | 115<br>64 | 240-21 | 17,3 | 52,8 | 55,9 | |
| BG2 × HA61<br>$F_1$ : 49 p. cent de INRA 4701<br>(*n* attaque naturelle) | | | | | | | | |
| $F_3$ | 265 | 7/9 | 572-107 | 1 203- 0 | 15,7 | 46,2 | 36,3 | 343-572 |
| $F_4$ | 193 | 9/12 | 636- 46 | 856- 0 | 13,5 | 50,0 | 31,4 | 125-276-636 |
| ADA4 × AN75<br>$F_1$ : 72 p. cent de INRA 4701<br>(*n* attaque naturelle) | | | | | | | | |
| $F_3$ | 179 | 5/5 | 232-130 | 430-15 | 0 | | 52,7 | |
| $F_4$ | 415 | 7/9 | 1 013-138 | 1 505- 0 | 4,4 | 17,3 | 33,8 | 545-1 013 |
| Ensemble des $F_3$ | 205 | 17/19 | 572- 64 | 1 203- 0 | 7,5 | 49,8 | 43,8 | |
| Ensemble des $F_4$ | 236 | 19/26 | 1 013- 48 | 1 572- 0 | 7,8 | 42,0 | 32,3 | |

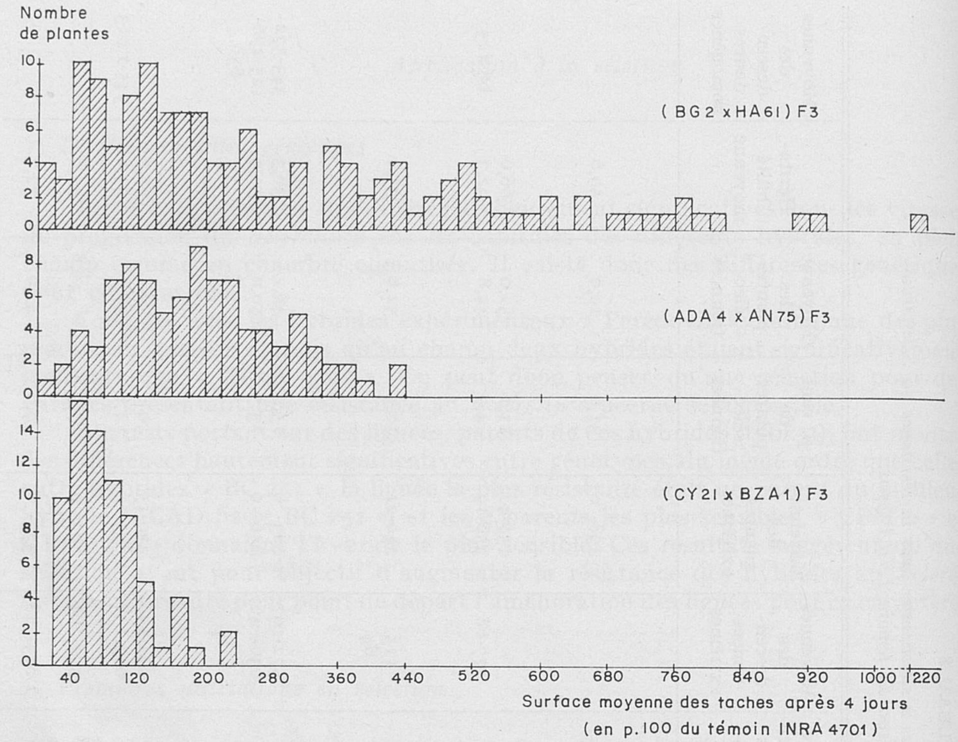



FIG. 3. — *Distribution des réactions à l'inoculation artificielle des plantes de 3 séries de descendances* $F_3$.

LECLERCQ (comm. pers.) a montré que ce rapport pouvait s'exprimer par la formule $\frac{(F - 1)}{(F - 1) + R}$ où F représente le rapport

$$\frac{\text{variance liée aux différences entre plantes.}}{\text{variance résiduelle}}$$

Nous sommes, toutefois, conscients qu'il ne s'agit là de l'héritabilité au sens classique, puisque, les différentes répétitions étaient effectuées sur la même plante, la variance résiduelle est ici seulement l'expression de la variabilité liée à la technique et de la variabilité interne à la plante. Cependant, la variance entre plantes paraît assez peu affectée par l'environnement puisque, pour les lignées parentales, la variance entre plantes est significativement plus grande que la variance intraplante seulement pour 7/65 comparaisons.

Le niveau d'héritabilité (ainsi définie) baisse de 59 p. cent pour la seule descendance $F_2$ à 32 p. cent pour les $F_4$, ce qui pouvait être attendu avec la fixation de la résistance. Néanmoins ces résultats doivent être confirmés sur les descendances issues des plantes testées.

Tandis que les meilleurs niveaux de résistance apparaissent parmi les descendances hétérogènes, des neuf descendances fixées, six présentent un niveau élevé de sensibilité. Ceci suggère que la sensibilité pourrait être récessive et que l'on devrait pouvoir éliminer assez rapidement les plus mauvais génotypes. Dans le même sens, la figure 3 montre que les courbes de distribution des plantes de

trois séries de $F_3$ ne sont pas normales et qu'il y a une majorité de plantes avec un niveau de résistance proche de celui de « INRA 4701 ». Il reste à déterminer si la sélection vers une résistance plus complète que celle de « INRA 4701 » peut être efficace.

*Reçu pour publication en mai 1977.*

## Summary

*Study of methods of inoculating sunflowers with* Sclerotinia sclerotiorum *and their application to breeding*

Tests for resistance of sunflowers to *Sclerotinia sclerotiorum*, independant of natural inoculum potential and plant height and earliness, have been developed.

For capitulum resistance, measurements are made of the area on the dorsal surface of the capitulum colonized by *Sclerotinia* 3 or 4 days after inoculation. Since, in sunflowers, there is no complete resistance, inoculations are 100 p. 100 successful and quantitative measurements of reaction are obtained. Inoculum consisting of agar pastilles containing mycelium placed on the dorsal surface gave more regular results than infected matchsticks introduced into the capitulum parenchyma.

Using agar pastilles there was a highly significant correlation between results in a growth chamber at 18 °C and in the field. However, the extension of *Sclerotinia* was inversily correlated with the maximum temperature on the day following inoculation and tests should not be made if the temperature is above 27 °C.

Maximum susceptibility of all genotypes occured during August. Their relative reactions were observed, during 3 successive years, to remain almost constant during August and early September. Testing in thus possible during about 1 month.

There were highly significant differences both between inbred lines and between hybrids. The results of the tests on hybrids were significantly correlated with their reactions to natural attack, although facters such as height affect the latter. The extension of *Sclerotinia* on the capitulum of hybrids is related to that on the two parents. In $F_2$, $F_3$ and $F_4$ progenies there were significant differences between plants. Seed was harvested from the most resistant plants, with on average of 50 p. 100 of the extension of Sclerotinia on the most resistant variety at present available in France. Estimates of heritability varying between 59 p. 100 in the $F_2$ and 32 p. 100 in the $F_4$ suggest that it will be possible to select inbred lines and hybrid varieties with satisfactory resistance to *Sclerotinia*.

Resistance to basal stem attack was determined by inoculation with sclerotia at soil level. There are significant differences between genotypes for the proportion of plants infected. Resistance to stem attack is not always associated with resistance to capitulum attack.

## Références bibliographiques

COURTILLOT *et al.*, 1973. Recherches de moyens de lutte contre le Botrytis du Tournesol (*B. cinerea* Pers.). Choix des méthodes et dates d'intervention en fonction des aspects biologiques et épidémologiques de la maladie. *Phytiatr.-Phytopharm.*, **22**, 189-200.

CUK L., 1974. Research on the resistance of sunflower inbred lines and hybrids to *Sclerotinia Libertiana Fuck. Proc.* **5***th int. Sunflower Conf.*, Bucharest, Romania, 303-307.

GUILLAUMIN J. J. *et al.*, 1974. Inoculation de capitules de Tourneosl au laboratoire par *Botrytis cinerea* et essais de mise au point d'un test de sensibilité variétale. *Proc.* **5***th int. Sunflower Conf.*, Bucharest, Romania, 655-660.

KROEZE, 1974. Rapport interne Unilever.

LECLERCQ P., 1973. Influence de facteurs héréditaires sur la résistance apparente du Tournesol, à *Sclerotinia sclerotiorum. Ann. Amélior. Plantes*, **23**, 279-286.

PUTT E. D., 1958. Note on differences in susceptibility to *Sclerotinia* within sunflowers. *Can. J. Plant Sci.*, **38**, 380-381.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (5), 539-547.

# Technique d'obtention d'hybrides Blé tendre × *Aegilops* par culture *in vitro* d'embryons immatures

Maria-Cristina CHUECA, Yvonne CAUDERON (*) et J. TEMPÉ (*)

*I.N.I.A.-C.R.I.D.A. 6 - Departamento de Cereales y Leguminosas*
*Finca « El Encin » - Apartado de Correos, 127*
*Alcala de Henares (Madrid) Espagne*

(*) *Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes,*
*Centre national de Recherches agronomiques, I.N.R.A.,*
*Route de Saint-Cyr, 78000 Versailles*

---

## Résumé

Les auteurs décrivent une technique qui leur a permis d'obtenir des hybrides $F_1$ (*Triticum aestivum* × *Aegilops sp.*).

Après avoir comparé le développement en culture *in vivo* et *in vitro*, d'hybrides intra (*T. aestivum* cv « Chinese Spring » × *T. aestivum* cv « Champlein ») et interspécifiques (*T. aestivum* cv « Chinese Spring » × *Ae. speltoides*) et précisé le moment de l'avortement des embryons issus de croisements (Blé × *Aegilops*), ils montrent que l'on peut en augmenter le taux de réussite par culture *in vitro* à condition de prélever les embryons au stade adéquat — 12 à 14 jours après la fécondation dans leurs conditions expérimentales — et, après dissection, de les mettre en culture *in vitro* sur le milieu de MONNIER. Ils exposent ensuite les avantages de la technique dans le cadre des programmes de sélection.

---

## I. — Introduction

Au cours de la réalisation d'un travail visant à transférer des gènes de résistance à la Rouille brune d'*Agropyron intermedium* (Host) P.B. sur les chromosomes du Blé tendre, *Triticum aestivum* L. *ssp. vulgare* M.K., $2n = 42$, nous avons été amenés à croiser des lignées d'addition ou de substitution Blé × *Agropyron* avec diverses souches d'*Aegilops* (*speltoides* ou *mutica*) réputées inductrices d'appariements homéologues et nous avons rencontré des difficultés au niveau de l'obtention des $F_1$ (CHUECA et CAUDERON, 1977) : sur près de 7 000 fleurs pollinisées en serre, nous avons récolté 96 grains très fortement échaudés et 39 « grains » réduits à leurs enveloppes. Des 96 grains les mieux constitués, la moitié seulement ont germé.

Si l'on compare le développement qui suit la pollinisation d'une fleur de Blé tendre par du pollen d'*Aegilops* avec le développement des grains après fécondation par du pollen de Blé, on s'aperçoit que la réussite du croisement dépend du passage par deux stades critiques : absence de nouaison pour une proportion élevée de fleurs ayant reçu le pollen d'*Aegilops* (98 p. 100), et pour les 2 p. 100 restant, nouaison, avec, fréquemment, production de grains incapables de germer, souvent sans embryon, ou avec un embryon mal formé, et toujours avec un albumen défectueux. Il s'agit là d'un phénomène classique, bien connu des spécialistes de l'hybridation interspécifique. L'incapacité d'un zygote hybride à produire un embryon viable sur l'albumen qui l'entoure constitue en effet l'un des mécanismes d'isolement entre espèces, les plus largement répandus dans la nature et il peut résulter de causes diverses (STEBBINS, 1958). Dans de nombreux cas cependant on peut surmonter cette difficulté en isolant l'embryon du milieu maternel dès les premiers stades de son développement et en le cultivant sur un milieu artificiel. Il est alors possible d'obtenir les produits du croisement. Les premiers essais de culture *in vitro* d'embryons immatures sont fort anciens et les résultats positifs sont nombreux. On en trouvera le résumé dans le travail de MONNIER (1976). A titre d'exemple, on peut rappeler les expériences de LAIBACH (1925, 1929) qui a obtenu des hybrides interspécifiques de Lin, ainsi que celles de KONZAK *et al.* (1951) et de DAVIES (1960) qui ont produit des hybrides interspécifiques d'Orge jusqu'alors réputés impossibles. Par cette technique nous avons obtenu des $F_1$ Blé tendre × *Aegilops speltoides*.

Ce sont les résultats de ce travail que nous rapportons dans cette note, travail qui avait pour objectif principal de préciser les conditions les plus favorables à la mise en culture des embryons.

## II. — Matériel et méthodes

### 1. — *Matériel*

Dans le cadre de cette étude, nous avons utilisé trois géniteurs :

— *Aegilops speltoides* Tausch, $2n = 14$, souche 908, reçue du D^r^ M. FELDMAN et récoltée en Israël, près d'Asquelon;

— deux cultivars de Blé tendre « Champlein » et « Chinese spring ».

Ce dernier a servi de parent femelle à deux types de $F_1$, « Chinese spring » × « Champlein », « Chinese spring » × *Ae. speltoides.*

Tous les croisements ont été réalisés en serre à partir de fleurs castrées, et pollinisées manuellement dès réceptivité des stigmates, c'est-à-dire 48 heures environ après l'ablation des étamines. Pour chaque croisement, nous avons castré et pollinisé 10 épis soit environ 200 fleurs.

Pour préciser le moment et les causes de l'avortement, dans les deux types de croisements, à partir de la pollinisation, nous avons effectué des prélèvements sériés échelonnés, d'abord toutes les 48 heures, puis toutes les 24 heures dès le dixième jour. Pour chaque prélèvement nous avons fait deux lots, l'un pour la culture *in vitro*, l'autre pour l'étude histologique.

### 2. — *Réalisation des préparations histologiques*

Pour la réalisation des préparations histologiques, les échantillons prélevés ont été fixés durant 24 heures dans le mélange de Carnoy (alcool éthylique absolu 6 vol.; chloroforme 4 vol.; acide acétique pur cristallisable 1 vol.). Après un rinçage dans deux bains d'alcool absolu de chacun 10 minutes, ils ont été stockés au réfrigérateur dans l'alcool à 70°. Ils ont été ensuite colorés par le réactif de Schiff durant une heure et demie après lavage à l'eau distillée et hydrolyse par l'acide chlorhydrique normal (12 mn à 60°); ils ont alors été transférés dans l'eau distillée et disséqués sous la loupe binoculaire. Pour ce faire on a placé l'échantillon sur une lame, dans une goutte d'acétocarmin de Belling. A l'aide d'une aiguille lancéolée, on a pratiqué une fente longitudinale dans les téguments que l'on a éliminés, libérant ainsi le complexe embryon-albumen. On a recouvert d'une lamelle, en prenant bien soin de ne pas écraser l'échantillon.

### 3. — *Dissection des grains en formation et mise en culture des embryons immatures*

Les grains prélevés ont été débarrassés de leurs enveloppes et lavés à l'alcool pendant quelques dizaines de secondes afin d'éliminer les cires superficielles. Ils ont ensuite été stérilisés superficiellement par l'hypochlorite de calcium à 5 p. 100 pendant 5 à 10 minutes. Les téguments ont été découpés tout autour de la zone où se trouve l'embryon à l'aide d'un fin scalpel. Ils ont ensuite été soulevés délicatement puis éliminés : suivant le stade auquel on opère, l'embryon est entraîné avec le tégument interne ou, s'il est plus développé, il reste au contact de l'albumen. Dans ce cas, le prélèvement est alors très facile, l'embryon est placé dans une boîte de Pétri de 5 cm de diamètre contenant environ 5 ml du milieu décrit par MONNIER (1976) pour la culture des embryons de Capselle (*Capsella Bursa-pastoris* Moench). Les boîtes de Pétri, qui peuvent contenir plusieurs embryons sont scellées avec un ruban de parafilm et incubées dans une chambre de culture où sont réalisées les conditions suivantes : éclairage fourni par des tubes fluorescents (environ 2 000 lux), température 25 °C, photopériode 16 heures. Les jeunes plantes issues du développement des embryons ainsi cultivés sont empotées dans un mélange de terreau, sable et tourbe mélangés à volumes égaux. Pendant les premiers jours qui suivent la transplantation, elles sont maintenues en micro-serre, dans une atmosphère saturée d'humidité.

L'évolution des embryons cultivés *in vitro* est observée sous le microscope ou sous la loupe binoculaire.

## III. — Résultats

### 1. — *Évolution de l'embryon*

Nous avons cherché à déterminer le stade le plus favorable de mise en culture des embryons immatures en la situant par rapport à la fécondation. Ce stade dépend de l'aptitude des embryons immatures à se développer *in vitro* dans le milieu de culture choisi et, également, en ce qui concerne les embryons hybrides, du moment auquel l'avortement se produit.

Pour définir ces coordonnées nous avons donc comparé l'évolution des deux séries d'embryons provenant de croisements :

« Chinese spring » × « Champlein »
« Chinese spring » × *Ae. speltoides*

Les embryons issus de prélèvements sériés effectués comme précédemment, d'abord toutes les 48 heures puis, dès le dixième jour, toutes les 24 heures à partir de la fécondation, ont été disséqués pour l'observation histologique ou pour la mise en culture et nous avons pu constater que, dans nos conditions, les embryons hybrides ou non, ne se sont développés *in vitro* que s'ils avaient été mis en culture 10 jours au moins après la pollinisation. Ils présentaient, à ce stade de développement, un scutellum bien différencié (*cf.* fig. 7 et 8, planche II); leurs dimensions moyennes sont portées dans le tableau 1.

TABLEAU I

*Évolution comparée de la taille (longueur × largeur, en mm) d'un embryon « Chinese spring » × « Champlein » et « Chinese spring » ×* Ae. speltoides *mis en culture* in vitro *10 jours après la pollinisation*

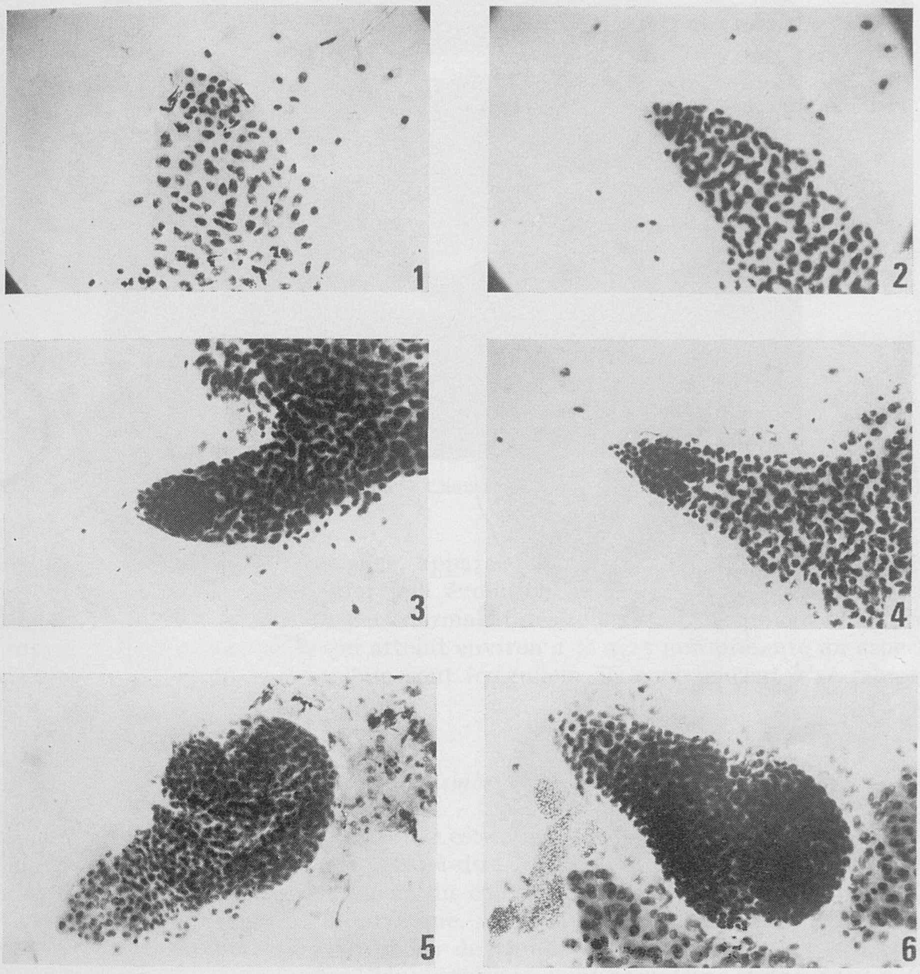
| Combinaison hybride | Mise en culture | Après 1 jour | Après 2 jours | Après 3 jours | Après 8 jours | Après 10 jours |
|---|---|---|---|---|---|---|
| « Chinese spring » × « Champlein » | 0,75 × 0,32 | 0,90 × 0,39 | 1,25 × 0,58 | 1,50 × 0,70 | 3,80 × 1,60 | germination |
| « Chinese spring » × *Ae. speltoides* | 0,83 × 0,42 | 0,97 × 0,50 | 1,23 × 0,63 | 1,50 × 0,75 | non notée | germination |

Dans nos conditions, c'est entre le douzième et le quatorzième jour après la pollinisation que le développement *in vitro* a rencontré le moins d'échecs et qu'il a été le plus rapide. Au delà de cette date, même pour les embryons non hybrides, on a observé un retard dans ce développement par rapport aux embryons plus jeunes.

Ce n'est qu'à partir du douzième jour après la pollinisation que l'on a commencé à apercevoir une différence entre le développement des grains Blé × *Aegilops* et celui des grains Blé × Blé. A ce stade le grain occupait environ le tiers de l'espace délimité par les glumelles et l'embryon avait une longueur de 1 mm environ.

L'observation de ces embryons permet de distinguer aisément les ébauches du coléoptyle et de la coléorhize ainsi que le vestige du deuxième cotylédon (*cf.* fig. 1).

Après ce stade les observations journalières permettent de constater une différence dans l'évolution des deux types de grains : le grain de Blé poursuit son développement, envahissant progressivement tout l'espace qui lui est offert, ce développement, étant principalement dû à l'accroissement en volume de l'albumen alors que la croissance de l'embryon commence déjà à se ralentir, les grains hybrides par contre prennent un aspect anormal, ils ne sont plus turgescents, et



*Colonne de gauche :*

« (Chinese spring » × *Ae speltoides*).

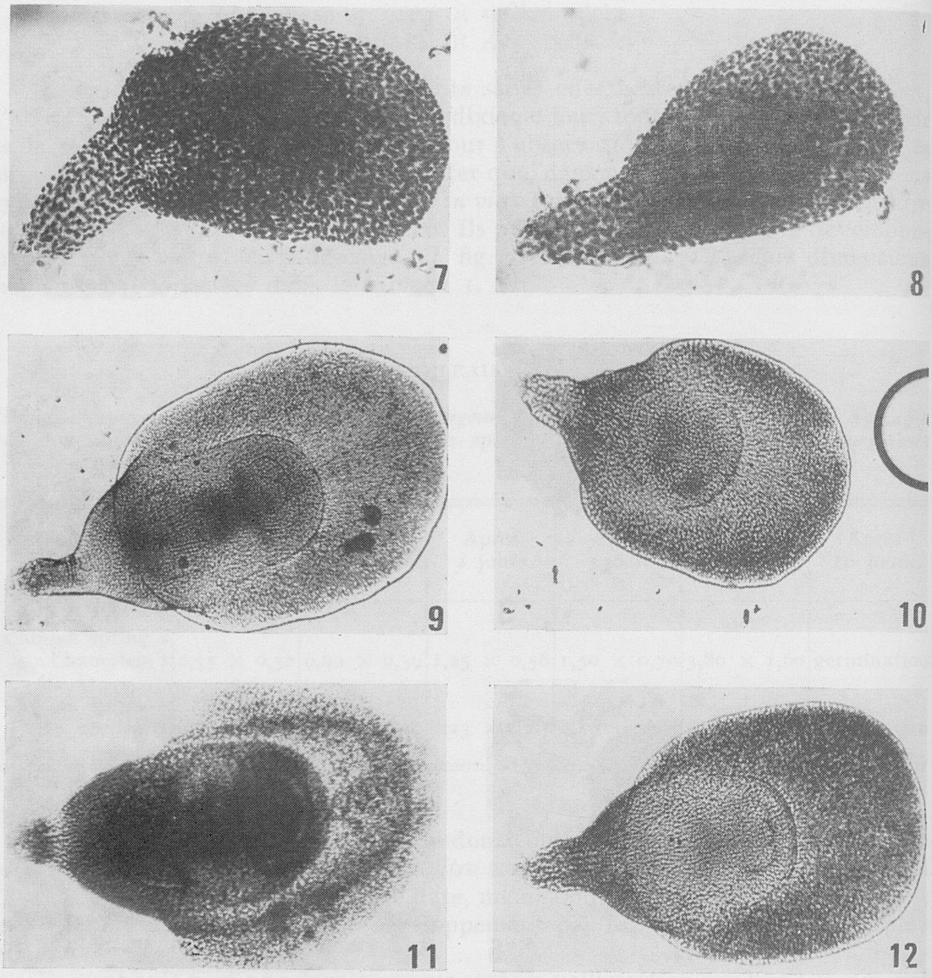
*Colonne de droite :*

(« Chinese spring » × « Champlein »).

*Texte commun aux deux colonnes :*

Embryons prélevés 4, 6 et 8 jours après la fécondation (× 80).

C.-M. Chueca, Y. Cauderon, J. Tempé




*Colonne de gauche :*

(« Chinese spring » × *Ae. speltoides*).

*Colonne de droite :*

(« Chinese spring » × « Champlein »).

*Texte commun aux 2 colonnes :*

Embryons prélevés 10, 13 et 14 jours après la fécondation (7 et 8 × 80; 9 à 12 × 40).

C.-M. Chueca, Y. Cauderon, J. Tempé

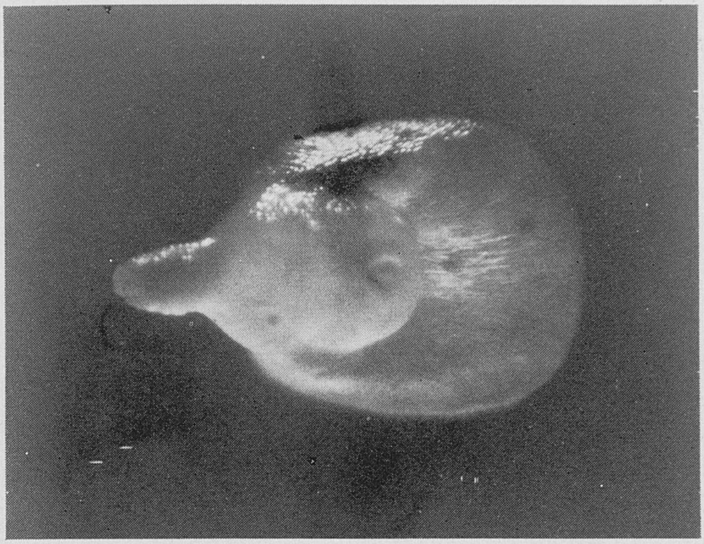


FIG. 1. — *Embryon* (« Chinese spring » × « Champlein ») *13 jours après la fécondation* (× 50).

déjà des signes de dégénérescence apparaissent. La dissection de ces grains montre vers le quatorzième jour une évolution anormale. L'albumen présente des zones opaques blanches d'aspect normal et des zones hyalines qui ont tendance à brunir. L'embryon hybride qui atteint environ 2 × 1,25 mm présente un aspect inhabituel : les bords du scutellum sont irréguliers, ils commencent à se relever lui conférant une forme de barque.

### 2. — *Comportement de l'embryon en culture* in vitro

La croissance des embryons *in vitro* est rapide, elle se poursuit sans ralentissement jusqu'à la « germination » c'est-à-dire jusqu'à l'apparition de la première racine séminale et le développement du coléoptile.

L'examen du tableau 1 montre que, entre la mise en culture *in vitro* et sa germination, les dimensions moyennes de l'embryon passent de 0,75 × 0,32 à 1,50 × 0,70 mm pour l'hybride « Chinese spring » × « Champlein » et de 0,83 × 0,42 à 1,50 × 0,75 mm pour l'hybride « Chinese spring » × *Ae. speltoides*.

Les conditions de culture que nous avions choisies d'après les travaux de MONNIER (1976) s'étant révélées satisfaisantes, nous n'en avons pas effectué une étude complète. Nous avons cependant noté l'influence de la concentration en saccharose sur le développement des embryons. Cette concentration doit être plus élevée pour les jeunes embryons prélevés 10 jours après la fécondation (de l'ordre de 10 à 12 p. 100) que pour des embryons de 12 à 14 jours qui peuvent être cultivés sur des milieux ne contenant que 5 p. 100 de saccharose. Aux fortes concentrations on observe une inhibition de la formation des poils absorbants; et nous avons constaté que la présence de ceux-ci facilitait la reprise des jeunes plantes au moment de leur repiquage en serre : il est donc préférable de repiquer les embryons au cours de leur développement *in vitro* sur des milieux contenant des concentrations décroissantes de saccharose.

Lors de la mise en culture, il est important de placer correctement l'embryon qui doit être en contact avec le milieu par son scutellum, lorsqu'il est déposé en position inverse, le développement est perturbé : on observe un ralentissement de la croissance avec parfois, apparition d'anomalies morphologiques.

## IV. — Discussion et conclusion

Dans le cas des croisements Blé tendre × *Ae. speltoides* ou assimilés (lignées d'addition ou de substitution × *Ae. speltoides*), les taux de nouaison sont toujours assez faibles et restent l'un des obstacles à l'efficacité de ces programmes de sélection par introgression. C'est d'ailleurs l'une des raisons pour lesquelles nous n'avons pu expérimenter qu'avec des effectifs d'embryons limités. Les résultats que nous avons pu tirer de ces expériences, sont cependant suffisamment clairs.

L'application de cette méthode de culture *in vitro* d'embryons immatures nous a déjà permis d'augmenter considérablement les taux de réussite des croisements entre des lignées d'addition ou de substitution (Blé × *Agropyron*) résistantes à la Rouille brune du Blé et les *Aegilops* diploïdes (*mutica* ou *speltoides*) inducteurs d'appariements homéologues : les taux de réussite sont de l'ordre de 90 p. 100 par rapport au nombre d'embryons formés et mis en culture.

En conclusion, l'un des problèmes qui se posent au niveau des croisements entre le Blé tendre (et également les lignées d'addition ou de substitution interspécifiques) et les *Aegilops* diploïdes susceptibles d'induire des recombinaisons homéologues est celui de l'avortement précoce de l'embryon hybride. Nous avons pu constater que ce dernier évoluait tout à fait normalement dans les 12 premiers jours de son développement. A ce stade, sans pouvoir présumer des causes de sa dégénérescence, nous pouvons affirmer que l'arrêt de développement du jeune embryon suit toujours celui de l'albumen et qu'il est très important d'effectuer les prélèvements avant cette période si l'on veut obtenir un taux de réussite acceptable. Des problèmes liés aux difficultés de manipulations de trop jeunes embryons nous amènent donc à conseiller d'effectuer les prélèvements à un stade de développement voisin de celui auquel nous avons opéré; (fig. 1) soit dans nos conditions, entre le douzième et quatorzième jour après la fécondation.

Les techniques décrites pour la culture *in vitro* et pour le contrôle cytologique de l'évolution du grain sont simples et ne nécessitent pas d'équipements très élaborés.

Il est d'ailleurs également important de souligner la rapidité avec laquelle il est possible d'obtenir des jeunes plantes puisque, 20 jours après la pollinisation, certaines d'entre elles ont déjà pu être cultivées en serre ce qui permet de gagner une génération.

*Reçu pour publication en août 1977.*

## Remerciements

Nous remercions MM. Poisson et Doussinault qui ont bien voulu se charger de la lecture de ce manuscrit.

## Summary

### In vitro *embryo culture technique to obtain* (Triticum aestivum × Aegilops sp.) *hybrids*

$F_1$ hybrids between *Triticum aestivum* and *Aegilops sp.* were needed during the developement of a research programme aiming to introduce the resistance to leaf rust of *Agropyron intermedium* in wheat. However pollination of wheat with *Aegilops* pollen yielded only very few, mostly abortive, seeds.

It is well known that, when abortion is due to degeneracy of endosperm, hybrid plants can, in some cases, nevertheless be obtained by the means of *in vitro* embryo culture. The authors describe conditions which allowed them to obtain *T. aestivum* × *Aegilops sp.* $F_1$ hybrids by this technique.

They have compared the development of inter- and intraspecific hybrids, both *in vivo* and *in vitro*. From this study they conclude that a high percentage of $F_1$ interspecific hybrids can be raised by cultivating them *in vitro* on Monnier's medium, provided that the immature embryos are dissected and placed in culture at the proper stage, 12 to 14 days after pollination, under their conditions.

The *in vitro* culture conditions are described, the technique is easy to practice and the results are rewarding. The hybrid embryos developed fairly rapidly, most of them could already be returned to normal greenhouse conditions 20 days after pollination.

Not only this technique is of advantage to obtain products of abortive crosses, but is is also suggested that it could be applied to shorten the generation time in breeding programmes.


## Références bibliographiques


CHUECA M. C., CAUDERON Y., 1977. Induction d'appariements homéologues entre les chromosomes du Blé tendre et un télosome d'*Agropyron intermedium* par croisement avec des Aegilops. *Ann. Amélior. Plantes*, **27** (2), 135-150.

DAVIES D. R., 1960. The embryo culture of interspecific hybrids of *Hordeum*. *New Phytol.* **59**, 9-14.

KONZAK C. F., RANDOLPH L. F., JENSEN N. F., 1951. Embryo culture of barley species hybrids. Cytological studies of *Hordeum sativum* × *Hordeum bulbosum*. *J. Heredity*, **42**, 125-134.

LAIBACH F., 1925. Das Taubwerden der Bastardsamen und die künstliche Aufzucht früh absterbender Bastardembryonen. *Z. Bot.*, **17**, 417-459 (*in* LAIBACH, 1929).

LAIBACH F., 1929. Ectogenesis in plants. Methods and genetic possibilities of propagating embryos otherwise dying in the seed. *J. Hered.*, **20**, 201-208.

MONNIER M., 1976. Culture *in vitro* de l'embryon immature de *Capsella Bursa-pastoris* Moench. *Rev. Cyt. Biol. végét.*, **39**, 1-120.

STEBBINS G. L., 1958. The inviability, weakness, and sterility of interspecific hybrids. *Adv. Genet.*, **9**, 147-215.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (5), 547-553.

# La stérilité mâle cytoplasmique chez *Vicia faba* L.

## II. — Hétérogénéité phénotypique d'une lignée mâle-stérile

H. THIELLEMENT

*Laboratoire d'Amélioration des Plantes,*
*Université de Paris-Sud, Bât. 360,*
*91405 Orsay-Cedex*

### Résumé

Une lignée mâle-stérile de Féverole de printemps (Ad 23/447) a été observée tout le long de la floraison en serre. On note le phénotype (Stérile, Fertile, Intermédiaire) tous les 8 jours environ. Une fraction importante des plantes (62 sur 146) présente une modification du phénotype (S vers I) simultanément pour toutes les tiges d'une plante, mais chaque plante à un moment différent. Ce phénomène SVI, irréversible, peut être relié pour chaque plante à un même stade morphogénétique des différentes tiges.

L'hétérogénéité constatée des phénotypes (plantes S, I, F, SVI) est compatible avec l'hypothèse d'une hétérogénéité cytoplasmique. Elle pourrait être due également à une expression de la fertilité pollinique modifiée par le vieillissement des plantes ou les conditions de serre.

### Introduction

La production de semences en quantités commercialisables d'hybrides de Féverole de première génération permettrait d'exploiter au mieux les potentialités agronomiques de ce protéagineux. L'utilisation de la stérilité mâle cytoplasmique semblait la voie la plus simple pour y parvenir (BOND *et al.*, 1966*b*).

Malheureusement, chez *Vicia faba*, les deux sources de cytoplasme mâle-stérile (« Cambridge 447 » de BOND *et al.*, 1966*a*; « Rennes 350 » de BERTHELEM, 1974) se sont révélées « instables », c'est-à-dire que lors des rétrocroisements du mainteneur sur la lignée mâle-stérile apparaissent des plantes fertiles et des plantes présentant à la fois des secteurs fertiles et des secteurs stériles. De plus, la restauration est permanente. La description de ces particularités et les interprétations qui peuvent en être faites ont été détaillées précédemment (BOND *et al.*, 1966*a* et *b*; BERTHELEM, 1970; BERTHELEM et LE GUEN, 1974; THIELLEMENT, 1977).

Il nous a paru intéressant, dans un premier temps, d'analyser les modalités

de cette instabilité phénotypique en étudiant, tout au long de la floraison, le phénotype pollinique d'une « lignée » mâle-stérile.

La mise en évidence d'une modification du phénotype, simultanément sur les différentes tiges d'une même plante, nous a conduit à rechercher également si une liaison pouvait être faite entre cette modification phénotypique et la morphogenèse.

## Matériel et méthodes

— *Le matériel végétal* nous a été fourni par PICARD de la Station d'Amélioration des Plantes de Dijon-Époisses, I.N.R.A.). Il s'agit d'une lignée de printemps, Ad 23, en 9^e^ génération de rétrocroisement sur le cytoplasme « Cambridge 447 ». Cette lignée a été sélectionnée par BERTHELEM à la Station I.N.R.A de Rennes.

— *Semis*. Les graines, stérilisées 10 minutes dans l'eau de Javel diluée de moitié, sont mises à germer le 20 février 1976 dans de la vermiculite. 150 jeunes plantes sont repiquées en serre le 1^er^ mars avec un espacement de 0,40 m dans la ligne et de 0,60 m entre les lignes, permettant le passage et facilitant l'émission de tiges secondaires («talles »).

### *Notations*

L'ordre d'apparition des tiges et leur localisation sur la plante sont repérés dès leur apparition. A la floraison, les plantes sont examinées et le phénotype noté pour les tiges fleuries. L'observation est poursuivie pour chaque tige jusqu'à la fin de la végétation; chaque plante est notée à peu près chaque semaine, soit tous les 4 à 6 nœuds foliaires.

### *Phénotypes*

Le stade d'observation choisi est celui de la fleur parvenue à maturité mais dont les pétales sont encore enroulés. Trois classes phénotypiques sont déterminées par l'aspect du pollen et des étamines :

— le phénotype stérile « S » : absence totale de pollen visible à l'œil nu, étamines recroquevillées brun-gris « sèches »;
— le phénotype fertile « F » : pollen blanc abondant, étamines souvent noires;
— le phénotype intermédiaire « I » : fleurs présentant un peu de pollen blanc, étamines noires ou pollen gris-jaune plus ou moins abondant, c'est-à-dire tout ce qui est ni stérile ni fertile.

### *Mesures annexes*

En fin de végétation, sur certaines plantes ayant présenté une modification phénotypique (voir résultats), nous avons noté le nombre de folioles à chaque nœud foliaire.

## Résultats

### 1. — *Hétérogénéité du 9e rétrocroisement*

L'examen du phénotype pollinique de 146 plantes Ad 23 fait apparaître une hétérogénéité à deux niveaux, entre les individus et à l'intérieur des individus, délimitant ainsi 2 groupes de plantes (tabl. 1) :

— celles dont le phénotype reste inchangé tout le long de la floraison : S, I ou F;

— celles dont le phénotype évolue au cours de la floraison de stérile à intermédiaire, ces plantes sont appelées « SVI » (pour Stérile Vers Intermédiaire).

TABLEAU 1

*Plantes observées dans le semis en serre de 146 individus Ad 23/447* (9e rétrocroisement)

| Phénotypes polliniques | S | I | F | SVI | Total |
|---|---|---|---|---|---|
| Effectif. . . . . . . . | 53 | 27 | 4 | 62 | 146 |

Les phénotypes S, stériles; I, intermédiaires; F, fertiles et SVI, stériles vers intermédiaires, sont explicités dans le texte (Méthodes).

### 2. — *Modalités du changement phénotypique. Phénomène SVI*

*a*) Ce changement de phénotype a lieu quasi simultanément sur toutes les tiges d'une même plante. C'est-à-dire qu'une plante notée S sera, au passage suivant, 4 à 6 nœuds plus haut, notée I pour toutes ses tiges. Une tige de Féverole ne peut donc plus être considérée comme phénotypiquement homogène.

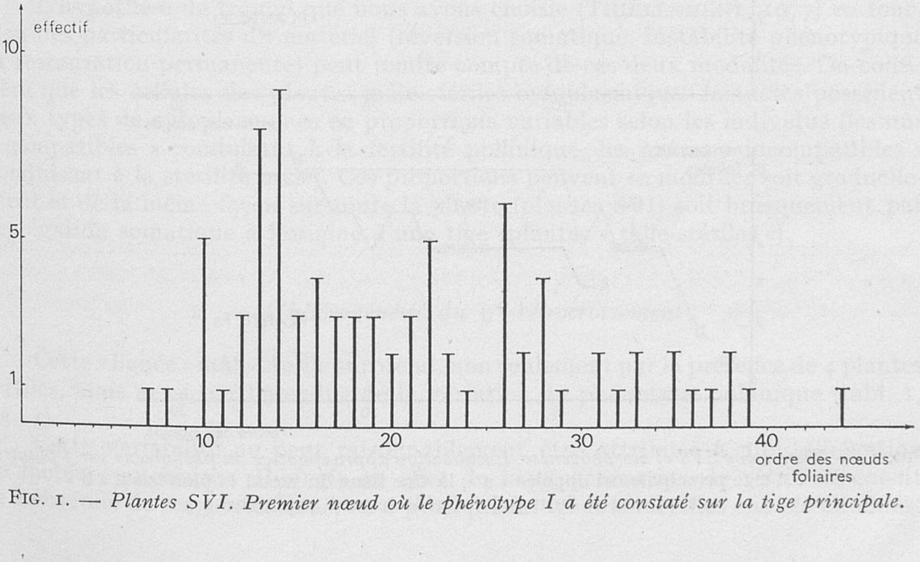



FIG. 1. — *Plantes SVI. Premier nœud où le phénotype I a été constaté sur la tige principale.*

*b*) Ce phénomène SVI peut avoir lieu n'importe quand pendant la vie de la plante. C'est ce qu'illustre la figure 1. Chaque plante présentant ce phénomène apparaît de ce point de vue comme originale.

*c*) Ce changement phénotypique est irréversible, nous n'avons jamais constaté de passage I vers S.

## 3. — *Phénomène SVI et morphogenèse*

Nous avons recherché un paramètre qui pouvait traduire l'évolution de la plante au cours de sa morphogenèse. Le nombre de folioles par nœud évolue régulièrement, pendant la croissance, de 2 à 6 et parfois 7. Nous avons représenté dans la figure 2 cette évolution pour 3 plantes et nous avons fait figurer pour chacune des tiges le moment approximatif où s'est produit le phénomène SVI.

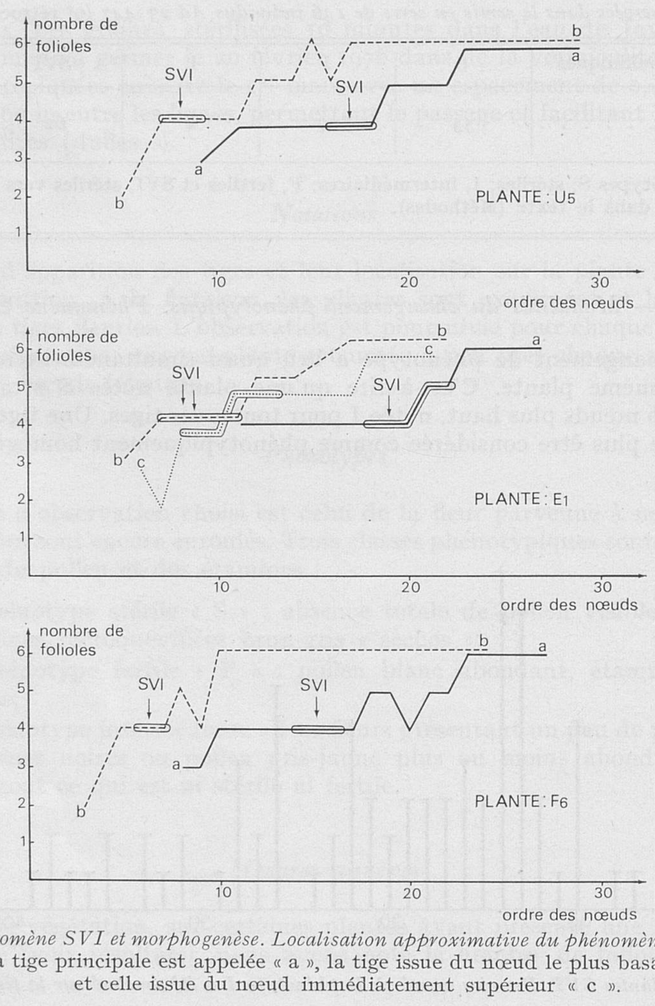



FIG. 2. — *Phénomène SVI et morphogenèse. Localisation approximative du phénomène sur 3 plantes.* La tige principale est appelée « a », la tige issue du nœud le plus basal « b » et celle issue du nœud immédiatement supérieur « c ».

On peut constater que c'est au même stade de la morphogenèse que se situe la modification phénotypique pour les différentes tiges d'une même plante :

— au stade 4 folioles/nœud pour les plantes U5 et F6;

— entre les stades 4 et 5 pour la plante E1.

Nous n'avons pu faire ces observations que sur les plantes SVI qui portaient encore l'essentiel de leurs feuilles en fin de végétation. L'effectif des plantes qui pouvaient être prises en considération était donc réduit mais sur d'autres plantes SVI (non représentées) c'est à d'autres stades (5, 6) que s'est produit le phénomène, mais toujours simultanément pour les différentes tiges d'une même plante.

## Interprétation - Discussion

### 1. — *La réversion somatique*

Les observations rapportées mettent en évidence une modalité nouvelle du passage sur le même individu du phénotype stérile à un phénotype plus fertile (intermédiaire). Divers auteurs (Bond *et al.*, 1966*a*; Berthelem, 1970) décrivent des plantes « talles-stériles », plantes stériles qui présentent à leur base une ou plusieurs ramifications fertiles. La modification phénotypique se fait ici le long d'une même tige et de façon plus graduelle (passage de S à I). Cette discontinuité est peut-être le reflet du mode de notation en 3 classes (un comptage en microscopie nous aurait peut-être indiqué une évolution continue). D'autre part, cette modification concerne toute la plante (dans quelques cas le changement de phénotype a été constaté avec un décalage d'une semaine entre les tiges d'un même individu) mais à des moments différents pour chacune des plantes (fig. 1).

Ce phénomène SVI est à rapprocher des observations de Bond qui signale la quasi-fertilité des féveroles mâle-stériles géniques en fin de végétation. On peut alors interpréter le phénomène SVI comme l'expression atténuée de l'allèle de maintien dans des conditions trophiques données (vieillissement). On distingue alors nettement dans ce cas cette modalité de celle des plantes « talle-stériles ».

L'hypothèse de travail que nous avons choisie (Thiellement, 1977) en fonction des particularités du matériel (réversion somatique, instabilité phénotypique et restauration permanente) peut rendre compte de ces deux modalités. On considère que les cellules des plantes mâle-stériles cytoplasmiques instables possèdent deux types de cytoplasmones en proportions variables selon les individus (les uns « compatibles » conduisant à la fertilité pollinique, les autres « incompatibles » conduisant à la stérilité mâle). Ces proportions peuvent se modifier soit graduellement et de la même façon sur toute la plante (plantes SVI) soit brusquement par ségrégation somatique à l'origine d'une tige (plantes « talle-stériles »).

### 2. — *L'hétérogénéité du 9e rétrocroisement*

Cette « lignée » mâle-stérile surprend, non seulement par la présence de 4 plantes fertiles, mais aussi par l'étendue de la variation du phénotype pollinique (tabl. 1, fig. 1).

Cette variabilité ne peut raisonnablement être attribuée à une ségrégation de facteurs nucléaires. Il s'agit en effet de la 9e génération de rétrocroisement et à chacune de ces générations, on a pratiqué un tri et les fertiles ont été éliminés.

Néanmoins il n'est pas impossible qu'il s'agisse de l'expression de gènes mineurs récessifs de restauration amenés à l'état homozygote. Cela implique que ces gènes soient nombreux et plus ou moins liés à des caractères agronomiques intéressants.

Le fait le plus marquant est l'existence de 62 plantes dont le phénotype varie au cours de la floraison (plantes SVI). Si le phénomène reflète une modification dans le matériel héréditaire, l'hypothèse des gènes restaurateurs récessifs est alors difficilement conciliable avec l'effectif des plantes SVI et les modalités du phénomène.

La simultanéité du phénomène SVI sur les différentes tiges d'une même plante rend peu convaincante l'hypothèse d'une mutation cytoplasmique due ou non à un gène nucléaire « mutateur » (CLÉMENT, 1975; TILNEY-BASSET, 1975) ou celle de la perte d'un facteur ou l'intégration d'un épisome (LAUGHNAN et GABAY, 1975). Par contre, l'étendue de cette hétérogénéité conforte l'hypothèse de travail d'hétérogénéité cytoplasmique sur laquelle s'exerce la pression sélective du noyau, modulée par les conditions de milieu et les mécanismes de répression /dérepression au cours de la morphogenèse.

La figure 2 montre que l'on peut faire une liaison entre le phénomène SVI, le temps et un stade donné de la morphogenèse. Mais la variété des stades morphogénétiques ainsi définis où se produit le phénomène rend difficile cette voie comme démarche explicative.

Une interprétation qui pourrait être faite de cette variabilité phénotypique est celle de l'influence des conditions de serre, notamment des températures élevées durant les mois de mai et juin 1976, sur l'expression de la fertilité pollinique (MARREWIJCK, 1969; SINGH, 1974, 1975). D'autant que DUC (1976) rapporte que le même matériel (9ᵉ rétrocroisement d'Ad 23 sur le cytoplasme 447) n'a présenté ni la même fréquence ni la même intensité de retour à la fertilité dans des conditions de champs.

Pour tester ce type d'explication (expression phénotypique modifiée par la température ou par le vieillissement) vis-à-vis d'une modification du matériel héréditaire, nous nous proposons d'étudier l'hérédité de ces plantes de phénotypes différents.

## Conclusion

L'observation du phénotype pollinique tout au long de la floraison d'une lignée mâle-stérile de Féverole met en évidence :

— une nouvelle particularité de la réversion somatique chez cette espèce, le phénomène SVI;
— une grande hétérogénéité entre les individus.

Ces deux types de résultats sont compatibles avec l'hypothèse d'une hétérogénéité cytoplasmique mais peuvent s'expliquer par une expression différente de la fertilité pollinique due à des conditions trophiques ou climatiques particulières.

*Reçu pour publication en juin 1977.*

## Remerciements

Ce travail a été financé en partie par la section « Légumineuses à grosses graines » de l'Association des Créateurs de Variétés Fourragères (A.C.V.F.).

## Summary

*Cytoplasmic male-sterility in* Vicia faba *L.*

*II. — Phenotypic heterogeneity of a male-sterile line*

A male-sterile line of field bean has been observed throughout its flowering period in a green-house. The phenotype (S for sterile, F for fertile, I for semi-fertile or semi-sterile) is noted approximatly every week for each tiller. A large number of plants (62 over 146) has presented a phenotypic modification (from S to I) simultaneously for all the tillers of one plant but for each plant at different times. This phenomenon, called « SVI » is irreversible and may be correlated for each plant independently at the same morphogenetic stage on the different tillers.

The large phenotypic heterogeneity which is observed (S plants, I plants, F plants, SVI plants) is compatible with the working hypothesis of a cytoplasmic heterogeneity. Nevertheless, it may be caused by some modification of the expression of pollen fertility, by the ageing of the plants or by the green-house conditions.


## Références bibliographiques


BERTHELEM P., 1970. Rapport d'activité de la Station d'Amélioration des Plantes de Rennes, I.N.R.A., 1968-1970.

BERTHELEM P. et LE GUEN J., 1974. Rapport d'activité de la Station d'Amélioration des Plantes de Rennes, I.N.R.A., 1971-1974.

BOND D., A. (non publié, communication à A. BERVILLÉ).

BOND D., A., FYFE J., L. et TOYNBEE-CLARKE G., 1966. Male sterility in field beans, *a*) III. — Male sterility with a cytoplasmic type of inheritance. *J. agric. Sci.*, **66**, 359-367. *b*) IV. — Use of cytoplasmic male-sterility in production of $F_1$ hybrids and their performances in trials. *J. agric. Sci.*, **66**, 369-377.

CLEMENT W. M., 1975. Plasmon mutations in cytoplasmic male-sterile pearl millet, *Pennisetum thyphoides*. *Genetics*, **79**, 583-588.

DUC G., 1976. Étude sur l'instabilité phénotypique de la stérilité mâle cytoplasmique chez la Féverole (*Vicia faba* L.). *Mémoire de fin d'études E.N.S.A. Rennes.*

LAUGHNAN J. R. et GABAY S. J., 1975. An episomal basis for instability of S male-sterility in Maize and some implications for plant breeding. in « *Genetics and Biogenesis of Mitochondria and Chloroplasts* » edited by BIRKY C. W. *et al.*, Ohio State University.

MARREWIJCK G. A. M., VAN, 1969. Cytoplasmic male-sterility in *Petunia*. I. Restoration of fertility with special reference to the influence of environment. *Euphytica*, **18**, 1-20.

SINGH I. S., 1974. Genetic analysis of pollen fertility in two lines of *Petunia*. *Ann. Amélior. Plantes*, **24** (2), 159-167.

SINGH I. S., 1975. Effets de la température et du niveau floral sur la fertilité pollinique chez le *Petunia*. *Ann. Amélior. Plantes*, **25** (4), 365-370.

THIELLEMENT H., 1977. La stérilité mâle cytoplasmique chez *Vicia faba* L. I. — Historique et hypothèses. *Ann. Amélior. Plantes*, **27** (2), 203-209.

TILNEY-BASSETT R. A. E., 1975. Genetics of variegated plants. in « *Genetics and Biogenesis of Mitochondria and Chloroplasts* » edited by BIRKY C. W. *et al.*, Ohio State University.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (5), 555-562.

# La stérilité mâle cytoplasmique chez *Vicia faba* L.

## III. — Hérédité des phénotypes polliniques

H. THIELLEMENT

*Laboratoire d'Amélioration des Plantes,*
*Université de Paris-Sud, Bât. 360,*
*91405 Orsay-Cedex*

## Résumé

Une lignée mâle-stérile cytoplasmique de Féverole présente une hétérogénéité remarquable quant au phénotype pollinique. Nous avons analysé les descendances des plantes de phénotypes différents : stériles, fertiles, intermédiaires et plantes SVI, c'est-à-dire à secteurs de phénotype stérile (descendances « pré ») et à secteurs de phénotype intermédiaire (descendances « post »). Les proportions différentes des différents phénotypes dans ces descendances met en évidence le caractère héréditaire des modifications phénotypiques observées. La descendance est globalement plus fertile que la lignée mère et seules les plantes mères S ont de nombreux descendants stériles. Les modalités de cette hérédité complexe sont discutées dans le cadre de l'hypothèse d'une hétérogénéité cytoplasmique.

## Introduction

La compréhension des mécanismes en jeu dans la stérilité mâle cytoplasmique chez la Féverole pourrait aboutir à une solution du problème agronomique qu'elle pose (Picard, 1975). Ses particularités (instabilité phénotypique, réversion somatique, restauration permanente) et leurs interprétations ont été décrites par ailleurs (Bond *et al.*, 1966; Berthelem, 1970; Thiellement, 1977 *a*). Une première étude d'une lignée mâle-stérile cytoplasmique en serre a révélé une hétérogénéité phénotypique considérable (Thiellement, 1977 *b*). Cette hétérogénéité et les modifications phénotypiques décrites résultent-elles de l'influence du milieu ou du vieillissement sur l'expression de la fertilité pollinique ou reflètent-elles des modifications dans le matériel héréditaire ? Pour trancher entre ces deux groupes d'hypothèses, nous rapportons ici les données obtenues par l'analyse des descendances de ce matériel phénotypiquement hétérogène.

## Matériel et méthodes

Il s'agit des descendances de la lignée de printemps Ad 23, sélectionnée à la Station I.N.R.A. de Rennes par Berthelem, en 9^e^ génération de rétrocroisement (BC9) sur le cytoplasme mâle-stérile anglais « Cambridge 447 » (Bond *et al.*, 1966). Le BC9 nous a été fourni par Picard de la Station de Dijon-Époisses.

L'observation de ce BC 9 (Thiellement, 1977*b*) permettait de distinguer 4 types de plantes pour le phénotype pollinique : des plantes fertiles « F », stériles « S » ou intermédiaires « I » de la première fleur à la fin de la végétation, ainsi que des plantes dites « SVI » dont le phénotype se modifiait en cours de floraison, passant du phénotype S au phénotype I simultanément pour toutes les tiges d'une même plante.

Nous avons regroupé les descendances en fonction du phénotype des plantes mères pollinisées librement, en effet :

— toutes ces plantes ont été pollinisées par le même nuage de pollen génétiquement homogène (BC9 vers BC10);
— en ce qui concerne la restauration de la fertilité, les auteurs indiquent (Bond *et al.*, 1966; Berthelem, 1970; Picard, 1972; Berthelem et Le Guen, 1974) que le pollen formé sur des plantes ou des secteurs fertiles, d'une descendance mâle-stérile par mainteneur, se comporte en croisement comme mainteneur de stérilité;
— enfin, ces plantes étant les seules féveroles dans la serre et alentour, toute contamination par du pollen étranger était exclue.

Les gousses issues de pollinisation libre sont prélevées individuellement. On les repère par le numéro de la plante, le numéro de la tige et le numéro d'ordre du nœud foliaire. Les graines semées individuellement en multipots le 1^er^ décembre 1976 sont repiquées en serre le 12 décembre avec un espacement de 0,40 m dans la ligne et de 0,60 m entre les lignes.

La détermination phénotypique et les méthodes d'observation ont été décrites précédemment (Thiellement, 1977*b*).

## Résultats

Les descendances sont regroupées en fonction du phénotype pollinique des plantes mères : descendances des plantes F, des plantes I, des plantes S.

Les descendances des plantes SVI sont :
— soit issues de secteurs de phénotype S, on les appelle descendances « pré »;
— soit issues de secteurs de phénotype I, on les appelle descendances « post ».

### 1. — *Descendances des plantes F*

Les deux descendances observées (14 plantes et 10 plantes) sont entièrement fertiles.

### 2. — *Descendances des plantes I* (tabl. 1)

— Il n'y a pas de stériles (colonne S) dans ces descendances.

— Une nouvelle classe phénotypique (colonne IVF) apparaît dans ces descendances. Il s'agit de plantes dont le phénotype s'est modifié en cours de végétation : d'abord notées I, elles sont, au passage suivant, notées F et ce pour toutes les tiges d'une plante simultanément. Ces plantes IVF n'ont été observées que dans ces descendances.

TABLEAU I

*Descendances des plantes « I »* (intermédiaire)

| Plantes mères \ Phénotypes | S | SVI | I | IVF | F | X | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| E2 . . . . . . . | | | 8 | | 2 | | 10 |
| F3 . . . . . . . | | 2 | 9 | 2 | 30 | 1 I/F | 44 |
| G5 . . . . . . . | | 2 | 4 | | 4 | | 10 |
| N5 . . . . . . . | | | 5 | 2 | | | 7 |
| Q1 . . . . . . . | | 2 | 2 | | | | 4 |
| R4 . . . . . . . | | 3 | 2 | | 8 | 1 I/F<br>1 SVI/F | 15 |
| Effectifs . . . . | 0 | 9 | 30 | 4 | 44 | 3 | 90 |
| Fréquences . . | 0,00 | 0,10 | 0,33 | 0,04 | 0,49 | 0,03 | |

En fonction de chaque plante mère de phénotype « I » (1re colonne), on a regroupé les descendants selon leur phénotype pollinique « S », stérile; « SVI », stérile vers intermédiaire; « I », intermédiaire; « IVF » intermédiaire vers fertile; « F », fertile. Dans la colonne X on a placé les plantes dont le phénotype n'est pas le même pour toutes les tiges. Ainsi I/F signifie que la tige principale est intermédiaire et une ou plusieurs ramifications secondaires fertiles.

— On observe (colonne F) près de 50 p. 100 de plantes fertiles.

— Dans la colonne X sont répertoriées les plantes dont le phénotype n'est pas identique pour toutes les tiges. Par exemple, I/F signifie que la tige principale est de phénotype intermédiaire alors que une ou plusieurs tiges secondaires sont de phénotype fertile.

— Les proportions relatives des différents types de descendants sont indiquées sur la dernière ligne du tableau.

### 3. — *Descendances des plantes SVI* (tabl. 2)

— Il n'est apparu qu'une plante stérile dans ces descendances, elle est issue d'un secteur « pré ».

— Les autres classes phénotypiques (SVI, I, F) sont représentées aussi bien dans les descendances « pré » que dans les descendances « post » mais pas dans les mêmes proportions. Ce fait est illustré par le tableau 3 qui regroupe les 4 plantes mères où existent des descendances issues de pré et de post.

— Quand on considère globalement toutes les descendances issues des plantes SVI et celles des plantes I, les différents phénotypes sont dans les mêmes proportions (dernières lignes des tabl. 1 et 2), mais c'est le fait de la superposition des descendances issues de pré et de post.

TABLEAU 2

*Descendances des plantes « SVI »* (stérile vers intermédiaire)

| Plantes mères \ Phénotypes | | S | SVI | I | IVF | F | X | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A4 | pré | | 1 | | | 1 | | 3 |
| | post | | | | | 1 | | |
| C2 | pré | 1 | 3 | 11 | | 9 | | 46 |
| | post | | | 3 | | 19 | | |
| C3 | pré | | 1 | 3 | | | | 8 |
| | post | | 1 | 3 | | | | |
| D6 | post | | | 5 | | 10 | | 15 |
| E1 | pré | | 1 | 4 | | 8 | 1 SVI/F | 14 |
| F1 | post | | | 6 | | 7 | 1 SVI/F | 14 |
| G6 | pré | | 1 | 3 | | 3 | | 10 |
| | post | | 1 | | | 2 | | |
| I4 | post | | 2 | 2 | | | | 4 |
| L3 | post | | | | | 6 | 1 I/F | 7 |
| O2 | post | | 1 | 4 | | | 1 I/F<br>1 F/I | 7 |
| Pré | Effectif | 1 | 7 | 21 | 0 | 21 | 1 | 51 |
| | Fréquence | 0,02 | 0,14 | 0,41 | 0,00 | 0,41 | 0,02 | |
| Post | Effectif | 0 | 5 | 23 | 0 | 45 | 4 | 77 |
| | Fréquence | 0,00 | 0,06 | 0,30 | 0,00 | 0,58 | 0,05 | |
| Total | Effectif | 1 | 12 | 44 | 0 | 66 | 5 | 128 |
| | Fréquence | 0,01 | 0,09 | 0,34 | 0,00 | 0,52 | 0,04 | |

Dans ces descendances, on a distingué celles issues de secteurs phénotypiquement stérile (descendances « pré ») de celles issues de secteurs phénotypiquement intermédiaires (descendances « post »). Les phénotypes sont décrits dans la légende du tableau I.

TABLEAU 3

*Descendances des plantes « SVI » $A_4$, $C_2$, $C_3$ et $G_6$*

| Phénotypes | S | SVI + I | F |
|---|---|---|---|
| « pré » . . . . . . . . . . . . . . . . | 1 | 23 | 13 |
| « post » . . . . . . . . . . . . . . . . | 0 | 8 | 22 |

Ces quatre plantes présentent à la fois des descendances « pré » (issues de secteurs de phénotype stérile) et « post » (issues de secteurs de phénotype intermédiaire), nous avons comparé les effectifs de leurs descendances. Le test du $\chi^2$ effectué sur les 2 dernières colonnes de droite fait apparaître une différence significative au seuil de 0,01.

### 4. — *Descendances des plantes S* (tabl. 4)

— C'est dans les descendances des plantes S que l'on retrouve le plus de plantes stériles : 62 p. 100.

— On observe néanmoins une proportion importante de plantes fertiles : 18 p. 100.

— Dans la desdendance de H6, on note (colonne X) une plante « talle-stérile ».

TABLEAU 4

*Descendances des plantes « S »* (stérile)

| Plantes mères \ Phénotypes | S | SVI | I | IVF | F | X | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| B1 . . . . . . | 1 | 1 | | | | | 2 |
| D1 . . . . . . | 8 | 1 | 1 | | 1 | | 11 |
| E6 . . . . . . | 2 | | | | 2 | | 4 |
| F2 . . . . . . | 2 | 1 | | | 4 | | 7 |
| H6 . . . . . . | 11 | 2 | 1 | | | 1 S/F | 15 |
| K4 . . . . . . | 3 | | | | 1 | | 4 |
| W5 . . . . . . | 1 | | | | | | 1 |
| N2 . . . . . . | | 1 | | | | | 1 |
| Effectif . . . . . | 28 | 6 | 2 | | 8 | 1 | 45 |
| Fréquence . . . | 0,62 | 0,13 | 0,04 | 0,00 | 0,18 | 0,02 | |

Les phénotypes sont décrits dans la légende du tableau 1.

## Interprétation - Discussion

Les proportions des différents phénotypes dans les descendances des plantes F, I et S (tabl. 1 et 4) et dans les descendances des secteurs pré et post des plantes SVI (tabl. 2 et 3) font apparaître que les variations phénotypiques observées chez les plantes mères sont le reflet de modifications dans le matériel héréditaire. On remarque que dans ce cas, paradoxalement, le déterminisme cytoplasmique de la stérilité mâle n'entraîne pas une hérédité maternelle stricte, sauf dans le cas des plantes fertiles puisque, pour les autres catégories, les descendants n'ont pas tous le phénotype maternel.

La discussion faite dans une note précédente (THIELLEMENT, 1977*b*), sur la validité des différentes hypothèses explicatives vis-à-vis des observations, et notamment du phénomène SVI, prend donc là tout son sens. Mais les modalités de cette hérédité apportent de nouvelles informations.

Il ne s'agit pas de deux états cellulaires (fertile/stérile; virosé/guéri) présents simultanément car, dans ce cas, même si globalement au niveau du pollen, on pouvait constater des phénotypes intermédiaires ou variables, on aurait dû trouver dans la descendance de ces plantes mosaïques (les plantes I dans cette hypothèse) des individus stériles. L'ensemble de ces résultats peut s'interpréter selon l'hypothèse de travail précédemment émise (THIELLEMENT, 1977*a*) : dans une lignée mâle-stérile cytoplasmique instable, les cellules des plantes possèdent deux types de cytoplasmones en proportions variables selon les individus. Un type « compatible » qui accompagne la fertilité pollinique et un type « incompatible » conduisant à l'avortement du pollen.

*La descendance des plantes « I »* (tabl. I) se compose d'individus où les proportions sont restées les mêmes que chez les plantes mères (descendants I) et d'individus où ces proportions se sont modifiées. Cette modification s'est faite soit précocement, dès l'ovule ou avant la floraison (descendants F) soit plus tardivement (descendants IVF). Les descendants SVI proviendraient d'ovules où la proportion de cytoplasmones compatibles était inférieure à celle de la plante mère (ségrégations somatiques lors de la gamétogenèse femelle).

*La descendance des plantes « SVI »* (tabl. 2) est identique en proportions à celle des plantes I (dernières lignes des tabl. 1 et 2), mais ce total recouvre deux types de descendances, pré et post, qui sont, elles, différentes (tabl. 3). Il s'ensuit que si les secteurs pré fournissent plus de plantes I, les secteurs post (phénotypiquement I) donnent moins de plantes I et SVI et plus de plantes F que les plantes mères I.

Ces faits peuvent s'interpréter si l'on considère que dans l'ovule à l'origine de la plante SVI, il y a moins de cytoplasmones compatibles qu'à l'origine d'une plante I, et ses premières fleurs sont phénotypiquement S. Mais en cours de végétation, l'évolution se fait au profit des cytoplasmones compatibles (phénomène SVI) et se poursuit au-delà des proportions des plantes I en moyenne. C'est cette évolution qui est reflétée par les proportions de descendants.

*Les descendances des plantes « S »* (tabl. 4) ne sont pas nombreuses par plante et l'examen de certaines d'entre elles, d'effectif petit, peut sembler surprenant (2S/2F; 3 S/1F). Par contre, si l'on considère les descendances plus importantes des plantes D1 et H6, on observe presque tous les phénotypes, mais le mode est phénotype stérile.

On pourrait néanmoins suggérer que parmi les 4 plantes fertiles du BC 9 (THIELLEMENT, 1977*b*), l'une portait un allèle de restauration (mutation rf vers Rf, en cours de vérification). Mais la faible probabilité de cet événement entraîne que au plus 1/8e du pollen circulant était restaurateur. Dans ce cas, la proportion de descendants F est accrue mais cela ne modifie pas l'allure générale des résultats.

Ces observations pourraient également s'interpréter en ne faisant intervenir qu'un seul élément cytoplasmique qui déterminerait, en quantités importantes, l'avortement du pollen. Les modifications phénotypiques reflétant les modifications quantitatives de cet élément et sa disparition correspondant au retour à la fertilité. Nous nous sommes néanmoins attaché à l'hypothèse précédente pour deux types de raison :

1° Si la règle générale est l'évolution irréversible de stérile à fertile, on connaît des cas de passage inverse. Ainsi HOFMANN (1972) et LE GUEN (communication personnelle) signalent l'apparition d'un rameau stérile sur une tige fertile d'une plante « talle-fertile ». On peut remarquer dans nos résultats (tabl. 5), dans la descendance « post » de la plante $O_2$, une plante dont la tige principale est « F » et qui a fourni des ramifications « I ». Si l'état « F » correspond à la disparition du cytoplasmone responsable de l'avortement du pollen, on interpète mal ces cas.

2° Sans qu'aucune démonstration définitive n'ait été apportée, l'hypothèse du support mitochondrial de la stérilité mâle cytoplasmique semble de plus en plus étayée. Dans cette optique, il semble logique de faire intervenir, dans ce cas d'instabilité, des chondriomes compatibles et incompatibles.

L'interprétation proposée d'hétérogénéité cytoplasmique sous-entend une dérive de cytoplasmones du fait de ségrégations somatiques. Il faut, pour rendre compte du fait que l'on aille presque toujours dans le sens stérile vers fertile, faire intervenir une pression sélective. Le génome nucléaire est vraisemblablement un agent sélectif puisque le taux de retour à la fertilité est fonction du mainteneur (BERTHELEM, 1970; BERTHELEM et LE GUEN, 1974) et aussi pour rendre compte de la restauration permanente. Dans cette hypothèse, l'allèle de restauration élimine en une génération les cytoplasmones incompatibles. Il est de surcroît probable que les conditions de milieu interviennent.

## Conclusion

L'analyse des descendances maternelles montre le caractère héréditaire de l'hétérogénéité phénotypique observée dans une lignée mâle-stérile cytoplasmique de Féverole. L'hérédité des phénotypes polliniques peut s'interpréter par une hétérogénéité cytoplasmique.

Seules les plantes S ont des descendants stériles. Il est trop tôt pour affirmer qu'une sélection généalogique maternelle (THIELLEMENT, 1977*a*), une fois réalisée la sélection pour le mainteneur, permettra d'obtenir un cytoplasme mâle-stérile stable. En effet cette méthode ne peut se révéler efficace que si le phénomène qui engendre cette hétérogénéité est rare. D'autre part, même dans la descendance des plantes S, on observe 18 p. 100 de fertiles.

Peut-être conviendrait-il parallèlement de rechercher de nouveaux cytoplasmes. Une manière de l'obtenir pourrait être la mutagenèse sur lignées mâle-stériles et le crible une restauration non permanente.

*Reçu pour publication en juin 1977.*

## Remerciements

Ce travail a été en partie financé par l'Association des Établissements Multiplicateurs de Semences de Plantes Légumineuses à Grosses Graines (A.M.S.O.L. Protéagineux).

## Summary

*Cytoplasmic male-sterility in* Vicia faba *L.*

*III. — Heredity of different phenotypes*

A male-sterile line (9th back-cross) of field bean shows a great heterogeneity concerning pollen fertility. Offsprings of plants of different phenotypes (sterile S, fertile F, semi-sterile I and modifying phenotypes from sterile to semi-sterile SVI plants) are analysed. The difference in the proportions of the phenotypes in the offsprings indicates that the phenotypical modifications observed in mother plants are the reflect of some changes in the hereditary material.

On the SVI plants, the offsprings from the phenotypically « I » sectors, called « post », are more often fertile and less often semi-sterile and SVI than the offsprings from the phenotypically « S » sectors, called « pre ». Furthermore, only one S plant appears in the offsprings of SVI plants and it is originated from a « pre » sector.

All the offsprings of F plants analysed are completely fertile.

Offsprings of S plants are mainly steriles (62 p. 100), nevertheless they give 18 p. 100 of fertiles.

In the offsprings of I plants, no sterile plants were found, but 49 p. 100 of fertiles. A new modifying phenotype appears in those offsprings, from semisterile to fertile, called " IVF ". Like in the SVI plants, this modification takes place simultaneously for all the tillers of one plant.

The working hypothesis, previously formulated, of two kinds of plasmons, one leading to pollen fertility, the other to pollen sterility, in different proportions in each plant, may explain the results. The tendancy to change nearly always to a more fertile state indicate a selective pressure, which can be attribute to the nuclear genome.

## Références bibliographiques

BERTHELEM P., 1970. *Rapport d'Activité de la Station d'Amélioration des Plantes de Rennes* I.N.R.A., 1968-1970.

BERTHELEM P., et LE GUEN J., 1974. *Rapport d'Activité de la Station d'Amélioration des Plantes de Rennes*, I.N.R.A., 1971-1974.

BOND D., A., FYFE J. L. et TOYNBEE-CLARKE G., 1966. Male-sterility in field beans. III. — Male-sterility with a cytoplasmic type of inheritance. *J. agric. Sci.*, **66**, 359-368.

HOFMANN J. P., 1972. *Contribution à l'étude de la stérilité mâle de la Féverole.* D.E.A. Université de Paris-Sud-Orsay, 30 p.

PICARD J., 1972. *Rapport d'Activité de la Station d'Amélioration des Plantes de Dijon*, I.N.R.A., 1968-1972.

PICARD J., 1975. Les protéagineux d'hiver : la féverole et le pois. *Fourrages Actual.*, **11**, 3-11.

THIELLEMENT H., 1977*a*. La stérilité mâle cytoplasmique chez *Vicia faba* L. I. — Historique et hypothèses. *Ann. Amélior. Plantes*, **27** (2), 203-209.

THIELLEMENT H., 1977*b*. La stérilité mâle cytoplasmique chez *Vicia faba* L. II. — Hétérogénéité phénotypique d'une lignée mâle-stérile. *Ann. Amélior. Plantes*, **27**, (5), 547-553.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (5), 563-576.

# A comparative study of genetic effects in isogenic diploid and tetraploid plants of *Festuca pratensis* Huds. (*)

## I. — Introduction, methodology and mean character differences

H. S. EASTON

*Station d'Amélioration des Plantes fourragères, I.N.R.A., 86600 Lusignan*

## Summary

The precise study of the effects of ploidy level requires the comparison of isogenic material. While a number of such studies have been published, this series of papers on *Festuca pratensis* is more extensive in both the size of the population sample and in the genetic experiments undertaken.

This first paper discusses the experimental procedure adopted, in particular the study of seedling characters, and presents cytological data, mean ploidy differences in seedling and field measurements, and coefficients of uncontrolled variation.

No immediate change of agronomic interest could be attributed to tetraploidy. However aneuploidy was not a serious problem in this material and the small increase in uncontrolled variation in the tetraploids did not appreciably affect experimental precision, so that further breeding work should be effective.

## Introduction

Isogenic interploidy comparisons, the study of material of the same gene content at different ploidy levels, are of interest for two reasons. Only such comparisons indicate whether diploid performance will reveal material likely to be

(*) This and papers to follow present work carried out under the direction of Professor Y. DEMARLY and published in a thesis submitted to the Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay for the degree of Docteur ès Sciences naturelles. A summary has already appeared in this journal.

Present address: Grasslands Division, DSIR, Palmerston North, New Zealand.

of value at the tetraploid level, and therefore whether selection before colchicine treatment in a plant breeding programme will be worthwhile. The creation and stabilisation of tetraploids is arduous and should if possible be concentrated on the most promising material.

The other advantage of isogenic comparisons is their precision. Study of the effects of ploidy on morphology and yield or on the organisation of genetic variability supposes that in fact only ploidy distinguishes the populations observed. This is not usually so. Where the tetraploid material has been derived from the diploid it represents that part of the population which has successfully responded to colchicine treatment. The proportion of treated diploid seeds which render tetraploid tillers may be quite small and, to save labour, chromosomes may be counted only for individuals visually assessed as likely to be tetraploid (WIT and SPECKMAN, 1954). The likelihood of bias in the sampling of the diploid popu-

TABLE I

*Reports of isogenic ploidy comparisons*
*Diploid — induced tetraploid*

| Species | Authors | Reference |
|---|---|---|
| *Lycopersicum* spp. . . . | LINDSTROM | *Genetics* (1935), **20**, 1-11. |
| *Lolium* spp. . . . . . | SULLIVAN AND MYERS | *J. Am. Soc. Agron.* (1939), **31**, 869-871. |
| | MYERS | *Bot. Gaz.* (1945), **106**, 304-316. |
| | MANSAT, PICARD AND BERTHOU | *Proc. Xth Int. Grlds Congr.* (1966), 671-676. |
| *Linum usitatissimum*. . | PANDEY | *Lloydia* (1956), **19**, 120-128. |
| *Trifolium pratense* . . | SJØSETH | *Hereditas* (1957), **43**, 679-682. |
| | SJØSETH | *Genet. agr.* (1959), **11**, 160-172. |
| | VESTED | *Euphytica* (1960), **9**, 35-38. |
| | MANSAT, PICARD and BERTHOU | *Loc. cit.* |
| | PICARD and BERTHAUT | *Proc. Xth Int. Grlds Congr.* (1966)., 664-666. |
| | ODINTSOVA | 1971: (Russian) Abstract in: *Plant Breed. Abstr.* (1973), **43**, 163, 1993. |
| | PICARD | *Eucarpia Fodder Crops Section. Zurich* (1975), 96-100. |
| | MAITRE | *Ibid.*, 113-116. |
| *Hordeum* sp. . . . . . | NORDENSKIOLD | Cited by Mansat *et al.* (1966). |
| *Secale cereale* . . . . | LUNDQVIST | *Hereditas* (1966), **56**, 317-366. |
| *Agropyron cristatum*. . | DEWEY | *Crop Sci.* (1969), **9**, 592-595. |
| *Cucumis melo*. . . . | DUMAS DE VAULX | *Ann. Amélior. Plantes* (1974), **24**, 389-403. |
| *Medicago sativa* . . . | KHOSROWCHAHLI | *Thesis Doct. Ingénieur, Paris-Sud* (1974). |
| *Brassica campestris* . . | GOWERS | *Euphytica* (1977), **26**, 203-206. |

*Induced dihaploid — tetraploid*

| | | |
|---|---|---|
| *Solanum* hybrid . . . | ROWE | *Amer. Potato J.* (1967), **44**, 195-203. |
| *S. tuberosum* . . . . | ROWE | *Ibid.*, 263-271. |
| *Medicago sativa* . . . | OBAJIMI and BINGHAM | *Crop Sci.* (1973) **13**, 36-39. |
| | DUNBIER *et al.* | *Ibid.*, (1975), **15**, 211-214. |

lation is therefore high. Isogenic studies do not eliminate the selective sampling of the population, but ensure that the same diploid sample is retained for comparison.

Isogenic studies of a number of species have been published (table 1). Some involve very few plants, some concern only the clonal generation directly derived from the treatment, and most consider only differences of growth and form. The results to be presented are from Meadow Fescue, *Festuca pratensis* Huds., an open pollinated perennial pasture grass. The species usually has the chromosome complement $2n = 2x = 14$. A natural tetraploid form has recently been reported (BORRILL *et al.*, 1971). With a total of twelve initial treated genotypes this study was more broadly based genetically than other published work, and involved genetic experimentation with four sexual generations.

## Effects of artificial tetraploidy in grasses

There have been many reports on the effects of doubling the chromosome complement in forage grasses. Early work by MYERS (1939) followed by that of WIT and SPECKMAN (1954) gave results which have been confirmed by many workers. Generally leaves and tillers are larger and heavier but slower to emerge and mature. Dry matter p. 100 is lower. EVANS (1967) has shown differences in the relative importance of different leaf tissues. Relative growth rates are lower in the tetraploids (BARCLAY and ARMSTRONG, 1966; EVANS, 1967). The frequency and performance of aneuploids has been studied by, amongst others, BARCLAY and ARMSTRONG (1966), AHLOOWALIA (1971*a*), EASTON (1973) and SIMONSEN (1973, 1975). The last author found aneuploids to be less frequent in *Festuca pratensis* than in *Lolium perenne*. VAN BOGAERT (1975) has surveyed the agronomic qualities of diploid and tetraploid cultivars of the ryegrasses. He was not convinced of any notable contribution attributable to tetraploidy.

The initial work of MYERS with *Lolium* indicated the difficulty of isolating pure tetraploid sectors from the chimeras left by colchicine treatment. Even after several cycles of testing and vegetative propagation, diploid inclusions persist. The intimacy of mixoploid association was indicated when HILL and MYERS (1944) and recently AHLOOWALIA (1967) found diploid and tetraploid cells in the same anther. DE LAUTOUR (personal communication) has observed such mixoploid anthers in *Festuca pratensis*. Only a generation of sexual reproduction and cytological control of the progeny will ensure a uniform ploidy level.

## Materials and methods

The *Festuca pratensis* material was kindly provided by P. MANSAT, who had constituted it as part of a series of investigations on artificial tetraploidy (see MANSAT *et al.*, 1966; MANSAT, 1970). Seeds of the cultivar « Sequana », a synthetic created from many clones of similar ecological origin, were soaked in colchicine solution and then germinated. Predominantly diploid and tetraploid sectors of the same clones were isolated by root tip chromosome counts. These plants were

then self-fertilised and mated amongst themselves so that a nine-parent diallel with reciprocals and the diagonal array was created at the two ploidy levels.

Cytological control of the tetraploid material at the I.N.R.A. seed control laboratory at La Minière indicated families with a proportion of diploids, and leaf-squash counts (DE LAUTOUR, 1960) by the author identified truly tetraploid individuals within families. Elimination from the diallels of families not wholly tetraploid, and of the corresponding diploid families, left a 6 parent diallel with

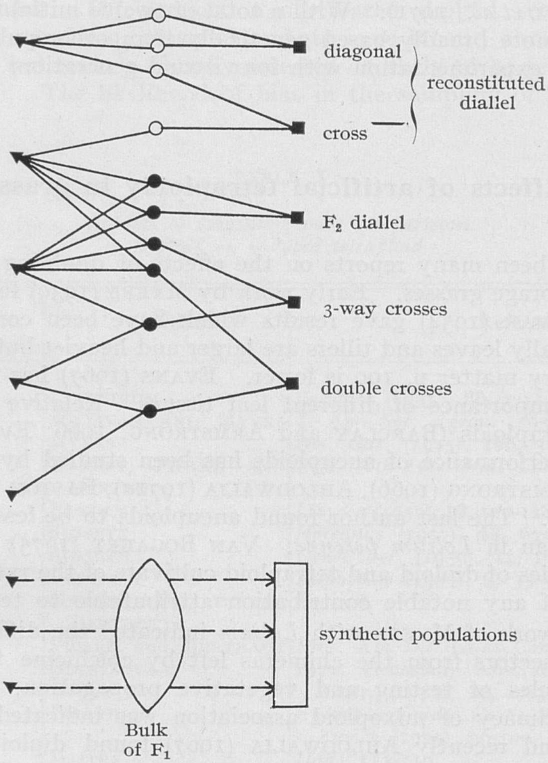



FIG. 1. — *Creation of genetic material.*

▾ Original clones (out of colchicine in tetraploid case).
o Individuals resulting from self-fertilisation of clones.
• Individuals resulting from crossing of clones.
▪ Second generation families.

reciprocals but not the diagonal array. As will be discussed in a following publication, a few families were missing at the tetraploid level.

From the truly tetraploid individuals isolated in the progeny, further families were constituted as shown in figure 1. Matings were effected by mutual pollination without emasculation.

All experiments will be discussed in further detail in following publications. They may be grouped according to the material used as follows.

I. — *Field experiment*

The families created directly by mating and selfing the colchicine treated clones were studied in the field by MANSAT who has kindly allowed me to analyse and present his data.

2. — *Leaf elongation study, growth analysis, selection experiment*

The synthetic populations at each ploidy level served for detailed studies of seedling morphology and growth, and for a selection experiment.

3. — *Reconstituted diallel, double cross, $F_1$ diallel, inbreeding study*

These experiments involved the second sexual generation families created by mating cytologically controlled plants. The inbreeding study also included the synthetic populations.

The field experiment conducted by MANSAT was laid down in micro-plots (JADAS-HÉCART, 1975) in the autumn of 1970. Plots consisted of two 1 metre rows of 10 plants. The diploid and tetraploid families, with a number of control cultivars, were sown together in a double 13 × 13 lattice repeated three times. With the elimination of the controls and the families not wholly tetraploid, the lattice structure of the experiment was disregarded in the analysis. Three harvests were weighed in the first year and, in the second, plot heights and dates of heading were noted before the first cut which was also weighed.

Other experiments were conducted outside, usually in the autumn. Germinated seeds were pricked into a sand/soil mixture in boxes measuring 37.5 × 12.5 × 15 cm deep. Plants grew in two rows, the number of plants per row being about 10 but varying with the experiment. The systemic insecticide « aldecarbe » in granular form was applied to the soil as the earlier experiments suffered damage from larvae of *Oscinella* sp. Precautions were also taken against aphid, slug and bird damage.

The boxes were supported in metal stands enabling easy observation. Boxes were arranged side by side in randomised blocks and toward the end of experiments, after 6 weeks' growth, mutual shading occurred.

Plants were observed daily to record emergence of leaf tips and of tillers. The emergence of the ligule of the 5th leaf was also noted, as was the number of tillers on the day the 6th leaf tip emerged. The lengths of the 5th and 6th leaves on the main tiller were measured and after some experiments fresh weights were harvested.

## Presentation and discussion of results

(i) *Cytological data*

Of the 33 supposed tetraploid families controlled at La Minière, 14 were tetraploid, 4 diploid and 15 a mixture of individuals at the two ploidy levels, with the tetraploid proportion varying from 9-97 %. Of the 434 seeds controlled in

mixoploid families, 107 were diploid and 326 tetraploid. Only one triploid was noted, in a 90 % tetraploid family.

In counts made in mixoploid families by the author, 82 of 191 individuals were diploid, 103 tetraploid and 2 triploid. Like that observed at La Minière, these triploids were found in a predominantly (83 %) tetraploid family. Four plants had chromosome numbers near the 5n level.

A seed lot of mixed ploidy implies haploid and diploid pollen and ovules present together, which should lead to the formation of triploid zygotes. The very low number of triploids recovered indicates that pollination, or at least maturation of fertilised ovules, is not random. WIT and SPECKMAN (1954) found triploids in mixoploid families of *L. perenne* but do not give their frequency. GRIFFITHS and PEGLER (1966) observed low numbers of triploids borne on tetraploid plants in the presence of diploids in the field. In a later more detailed study, also on Perennial Ryegrass, GRIFFITHS *et al.* (1971) noted that fertilisation of diploid ovules by haploid pollen was frequent but that seed development was poor, particularly endosperm formation, and that germination was reduced. Very few triploid seedlings established.

Counts at La Minière having been made on germinated seed, with interplant competition not a factor, it would seem that shrivelled triploid seed which might have germinated had been dressed out.

Precise chromosome counts were made by the author for 293 tetraploid individuals. 69 p. 100 were euploid.

All figures cited thus far refer to $C_1$ families, the first sexual generation after chromosome doubling. In the 3 generations of the synthetic population the mean euploid frequency was 84 %, and amongst selected plants of the 3rd, $C_3$, generation it was 88 %. This last figure could be an underestimate as more individuals were checked in the slow growth selection group than in the rapid. However aneuploids seemed no more frequent in the slow group than amongst plants taken at random, and cytological control of plants noted as feeble in a growth experiment did not reveal an unduly high aneuploid frequency.

These observations accord with the results of an experiment with *Lolium* (EASTON, 1973) in which aneuploids had shorter leaves but a rate of leaf appearance not significantly different to that of euploids. They suggest selected plants are those with genes controlling slow development rather than generally feeble individuals which might tend to be frequent in the aneuploid fraction.

It is noteworthy that this synthetic population had undergone no cytological control after its constitution by the crossing of $C_0$ plants.

The aneuploid frequencies recorded are lower than those published for *Lolium* (BARCLAY and ARMSTRONG, 1966; AHLOOWALIA, 1971*a*; EASTON, 1973). SIMONSEN found a lower aneuploid frequency in tetraploid *F. pratensis*, 29 p. 100 (1975) than in similar material of *L. perenne*, 48 % (1973). SIMONSEN'S studies of meiosis did not reveal any double aneuploids of the type $4n + 1 - 1$ which would have passed for euploids in our simple counts of mitotic divisions. Our $C_1$ results are similar to SIMONSEN'S, and our aneuploid frequencies in advanced generation tetraploid *F. pratensis* are even lower.

The low aneuploid frequencies lend precision to the growth and genetic experiments to be described, and allow confidence in their interpretation.

### (ii) *General comparison of ploidy levels at seedling stage*

Table 2 summarises ploidy means of seedling characters measured in different experiments. The $F_2$ diallel experiment is not included, as a 5-day delay in sowing greatly disfavoured the tetraploids.

TABLE 2

*Means of seedling characters for different experiments*

| Character \ Experiment | | Leaf study | Selection evaluation | Diallel[1] | Diagonals[2] | Double crosses | Inbreeding study |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Phyllochron (days) | 2n . . . | 6.92 | 7.85 | 4.95 | 5.09 | 7.85 | 5.23 |
| | 4n . . . | 7.87 | 8.96 | 5.34 | 5.57 | 8.82 | 5.68 |
| | 4n/2n . | 1.14 | 1.14 | 1.08 | 1.09 | 1.12 | 1.09 |
| Tillers at 6th leaf | 2n . . . | 9.21 | 4.98 | 4.45 | 4.09 | 4.34 | 4.19 |
| | 4n . . . | 8.63 | 4.83 | 4.16 | 3.97 | 4.42 | 4.13 |
| | 4n/2n . | 0.94 | 0.97 | 0.93 | 0.97 | 1.02 | 0.99 |
| Elongation of 1 leaf (days) | 2n . . . | 10.83 | 15.24 | — | — | 15.21 | 7.06 |
| | 4n . . . | 11.51 | 17.17 | — | — | 16.50 | 7.12 |
| | 4n/2n . | 1.06 | 1.13 | | | 1.08 | 1.01 |
| Days between emergence leaf, tiller | 2n . . . | 21.5 | 22.6 | 15.0 | 15.2 | 23.4 | 15.9 |
| | 4n . . . | 21.6 | 26.3 | 16.3 | 17.2 | 25.8 | 17.2 |
| | 4n/2n . | 1.00 | 1.16 | 1.08 | 1.13 | 1.10 | 1.08 |
| Days between sowing, leaf 5 | 2n . . . | 24.2 | 26.0 | 26.1 | 27.3 | 27.1 | 29.6 |
| | 4n . . . | 25.0 | 27.7 | 27.1 | 28.0 | 28.7 | 31.1 |
| | 4n/2n . | 1.04 | 1.06 | 1.04 | 1.03 | 1.06 | 1.05 |
| Leaf length (mm) | 2n . . . | 132.4 | 88.1 | 92.0 | 85.5 | 83.9 | 81.6 |
| | 4n . . . | 152.8 | 103.6 | 106.4 | 97.6 | 96.6 | 99.3 |
| | 4n/2n . | 1.15 | 1.18 | 1.16 | 1.14 | 1.15 | 1.22 |
| Frequency of coleop. tiller | 2n . . . | 0.33[3] | 0.20 | 0.12 | 0.07 | 0.10 | 0.15 |
| | 4n . . . | 0.41 | 0.18 | 0.04 | 0.03 | 0.04 | 0.07 |
| Fresh weight (2 experiments) | 2n . . . | 2.03 | | | | | 2.29 |
| | | | (70 days) | | | (47 days) | |
| | 4n . . . | 2.62 | | | | | 2.72 |
| % dry matter | 2n . . . | 18.6 | | | 16.2 | | |
| | 4n . . . | 16.7 | | | 15.8 | | |
| 500 grain weight (g) (means of three full sib families) | 2n . . . | 0.99 | | | | | |
| | 4n . . . | 1.59 | | | | | |

(1) Reconstituted diallel.
(2) Diagonal elements of same.
(3) 60 diploid plants observed in leaf study. All other frequencies based on at least 130 observations.

Each ploidy level was grown in distinct blocks, these blocks being arranged alternately for the reconstituted diallel but grouped separately for the other experiments. However the consistency of the interploidy comparisons and the uniformity of the experimental area allow conclusions to be drawn with confidence.

With tetraploidy then the phyllochron (the interval between emergence of successive leaves) is lengthened by 8 to 15 % as are the period of elongation of a leaf and the delay between the emergence of a leaf and of a tiller in its axil. Leaf length is increased by 14 to 22 %. EVANS (1967) and EASTON (1973) noted similar results.

The frequency of plants bearing a tiller in the axil of the coleoptile is markedly reduced except for the leaf study and the selection experiments (both concern the synthetic population). This may be reflected in a reduced number of tillers at the 6th leaf stage but the data do not justify such a conclusion. If there is a difference it is very small and it seems that potential tillering sites are realised as efficiently in the tetraploids as in the diploids. This character varies greatly with environment and genetic material (for example PATEL and COOPER, 1961).

The number of days between sowing and the emergence of the 5th leaf is slightly greater in the tetraploids, the relative difference being much lower than that for the phyllochron. The later leaves are more affected than the earlier by the longer phyllochron and interpolation would indicate that the 1st and 2nd leaves were in fact earlier for the tetraploids than the diploids. Establishment vigour was not quantified but it did seem improved in the tetraploids, a reflection perhaps of greater seed weight. The influence of seed weight on seedling vigour has been noted between species by HAYES (1975); and within a species by, amongst many others, THOMAS (1966). The seed weight difference shown in table 2 is less than that reported for *Lolium* by BARCLAY and ARMSTRONG (1966), EVANS (1967) and VAN BOGAERT (1975).

Another comparison of interest is that between the relative ploidy differences for leaf length and period of elongation. The latter is insufficient to account for the former, suggesting that greater tetraploid leaf length is partly due to an increased rate of elongation.

In the two experiments where they were measured, fresh weight was greater in the tetraploids and dry matter % less.

The good establishment vigour, larger plant parts but slower development and lower dry matter % are frequently observed characteristics of artificial tetraploids. The particular interest of these data is in confirming these effects in a broadly based isogenic material.

### (iii) *Performance in the field*

Data collected by P. MANSAT in the diallel field experiment are presented in table 3.

In the first full growing season the tetraploid/diploid dry weight ratio was similar for the three weighed cuts (0.90, 0.85, 0.85), after an unweighed first cut. This ratio was much lower in the second year, indicating a more rapid decline in vigour of the tetraploids. AHLOOWALIA (1971*b*) has observed a relative reduction in tetraploid herbage yield of perennial ryegrass in the second year. Yield improvements with tetraploidy have been claimed (WIT and SPECKMAN, 1954; BARCLAY and VARTHA, 1966) but the material concerned has usually undergone selection after doubling. SIMONSEN (1973, 1975) observed an increase in *L.*

TABLE 3

*Data of P. Mansat taken from diallel microplot field trial*

| | Yield (1) 1st year | Yield (2) 2nd year | % (3) DM | Number ears | Plot ht (cm) | % N | *In vitro* digest-ibility % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Diploid . . . . . | 100 | 100 | 24.2 | 100 | 78 | 1.87 | 73.4 |
| Tetraploid . . . | 87 (**) | 75 (**) | 22.1 (**) | 48 (**) | 73 (**) | 1.80 (*) | 75.3 (*) |

(1) Sum of cuts 2, 3, 4.
(2) A single cut 18th May.
(3) Cut 2 in 1st year.
(*) Difference significant at 5 % probability level.
(**) Difference significant at 1 % probability level.

*perenne* but a 7 % reduction in *F. pratensis.* VAN BOGAERT (1975) concluded that in general for work published throughout the world, and for cultivars currently available, tetraploidy has not contributed an increase in yield and further that the effect is less favourable in the more perennial types of the *Lolium perenne/multiflorum* range than in the more annual types. *F. pratensis* is more readily compared with the perennial types.

Dry matter % was lower in the tetraploids.

The 50 % reduction in the number of ears in the tetraploids is probably associated with a lower number of tillers and perhaps also with a less regular transformation to the reproductive state. We have no further information on this.

The most surprising result is the lower height of the tetraploid plots before the first cut, and it suggests a precocity effect. Tetraploids are reputed to be later heading (RANDOLPH, 1941; WIT and SPECKMAN, 1955) and tillers would have been at an earlier stage on the day of noting which was the same for the two ploidy levels. Such a precocity effect might also partly explain the fewer ears and even the lower yields, particularly in the second year when only one harvest was taken. Heading date notes were not taken in this experiment but the two ploidy levels appeared to develop at a similar rate.

Heading date means of spaced plants of the Syn III populations in the first year after planting out are given in table 4. The difference is significant and the

TABLE 4

*Heading date* (number of days after 30th April) *of Syn III populations*
*Means of 60 plants*

| | Mean | Standard deviation |
|---|---|---|
| Diploid . . . . . . . . . . . . . . . . | 11.5 | 1.1 |
| Tetraploid. . . . . . . . . . . . . . . | 16.9 | 0.8 |

tetraploids being later accords with their slower development at all stages. But it is contrary to the results of AHLOOWALIA (1971*b*) and SIMONSEN (1973, 1975) who observed earlier heading and flowering.

The difference of five days in our material is however insufficient to explain the differences in table 3. It is true that the heading date data are taken from a more advanced tetraploid generation than those of the field trial. The population may have evolved toward a more regular precocity.

Note finally an improvement in *in vitro* digestibility of the tetraploids and a reduction in nitrogen content. Varying results have been reported for these characters (VAN BOGAERT, 1975).

### (iv) *Within-plot variability*

For most experiments discussed here, families were represented in a block by plots of three plants, there being four plots per box. In the reconstituted diallel this situation was complicated by missing plants being replaced by individuals of related families, and in the leaf growth study all plants in a box were of one population.

The coefficients of variation in table 5 indicate within-box variability for this last experiment, within-family/block (i.e. largely within plot) variability for

TABLE 5

*Coefficients of variation for different experiments*

| Character \ Experiment | | Leaf study | Selection evaluation | Diallel (*) | Diagonals (*) | Double crosses | Inbreeding study |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Phyllochron . . . | 2n | 0.117 | 0.100 | 0.108 | 0.092 | 0.100 | 0.061 |
| | 4n | 0.161 | 0.097 | 0.124 | 0.123 | 0.116 | 0.067 |
| Tillers at 6th leaf | 2n | 0.222 | 0.164 | 0.199 | 0.203 | 0.179 | — |
| | 4n | 0.238 | 0.177 | 0.200 | 0.225 | 0.187 | — |
| Days elongation of | 2n | 0.085 | 0.095 | — | — | 0.103 | 0.106 |
| 1 leaf . . . . | 4n | 0.095 | 0.084 | — | — | 0.105 | 0.106 |
| Days between emergence leaf, tiller | 2n | — | 0.110 | 0.150 | 0.108 | 0.119 | 0.072 |
| | 4n | — | 0.111 | 0.193 | 0.168 | 0.138 | 0.073 |
| Days between | 2n | 0.114 | 0.087 | 0.080 | 0.085 | 0.088 | 0.058 |
| sowing, leaf 5 . | 4n | 0.114 | 0.083 | 0.079 | 0.084 | 0.105 | 0.061 |
| Leaf length (mm) | 2n | 0.176 | 0.107 | 0.125 | 0.146 | 0.124 | 0.135 |
| | 4n | 0.156 | 0.111 | 0.133 | 0.144 | 0.133 | 0.130 |

The mean over 27 comparisons (omitting leaf study) of $\ln CV_{4n} - \ln CV_{2n} = 0.0721$, with a standard deviation of 0.0227.

(*) Reconstituted diallel.

the reconstituted diallel and strictly intraplot variability for the other experiments. The interplot component for the reconstituted diallel is small and much the same for the two ploidy levels.

Values for the different experiments are of the same order. Those of the leaf growth study are higher, being a measure of within-population rather than within-family variability. The reconstituted diallel and its diagonal elements also have slightly higher coefficients reflecting perhaps their interplot component. On the other hand the experiment comparing different levels of inbreeding has lower coefficients than the others. This was the only experiment conducted in the spring, with progressively improving light and temperature. Plants slow to start reached given maturity stages in more favourable conditions, and this might be expected to compress the variability. The reverse would be the case in the autumn experiments. Such an effect if important implies non-independence of genetic and environmental factors. This will be considered in a later paper.

There is a general tendency for the coefficients to be larger for the tetraploids. The differences are not large and in several instances are reversed. For three experiments the differences are large for the delay between the emergence of a leaf and that of a tiller in its axil. The third tiller was sometimes very slow to emerge in weaker plants shaded by their neighbours and this effect was greater amongst the tetraploids.

An increased intraplot variability may be due to three sources.

(1) The three positions in a plot are distinct. One plant is next to a border plant, itself against the end of the box; the third adjoins the next plot and the second is between these two. There is also random variation between sites within a box. The tetraploids may have been more sensitive than the diploids to these micro-environmental effects. In the leaf growth study experiment though, the position effect should have been less important and yet the greater variability of the tetraploids is still evident.

(2) There may have been greater random variability amongst the tetraploids, regulation of development being perhaps perturbed by the change of ploidy level. However close observation of plant development revealed no such effects.

(3) A third source of intraplot variation is within-family genetic variability, which can be expected to be considerable in an outbreeding species.

Given that this increased coefficient of variation is for most characters associated with a greater mean, the variance of the tetraploids is increased even more than indicated by the table.

A greater intraplot variance, or error, reduces precision and complicates the task of the plant breeder. However, if due to genetic variability it may permit a more intensive continued selection without exhausting population diversity.

## General discussion : experimental procedure

The experiments considered here involved the study of seedlings in boxes outside.

Working in a glasshouse or growth chamber would have avoided the progressive change of climate during the experiments. However, larger experiments are possible outside, and in the glasshouse temperature variation over the day is amplified, with high points of up to 40°C unless effective cooling systems are

available. Furthermore, environmental variation in space can be considerable in the glasshouse but would have been negligible outside.

Effective experimental work outside in the autumn was only possible between 20th August and the end of October. Seedlings had to be shaded in August to allow them to establish. After about the 15th October plants were covered at night as a protection against frosts.

Seedling characters may themselves be of interest in selection (McWilliam and Latter, 1970; Kneebone, 1972), or may be correlated with characters of more direct agronomic interest (Hayward and Breese, 1968; Rhodes, 1973; Latter, 1971). Gallais (1972) has been able to use the leaf length of spaced plants in a prediction index of plot yield for Cocksfoot, and leaf length shows good repeatability throughout the life of the plant. Mansat and René (1970) and Hayward (1975) have made similar observations for Perennial Ryegrass. Large numbers of plants may be screened at the seedling stage and only the most promising retained for later, more direct evaluation.

The genetic structure of a plant material will have evolved according to the heterogeneity and isolation of the population, its mode of reproduction and the nature of selection pressures. It is reflected in the variation of seedling characters as of other quantitative traits. From easily and rapidly executed experiments on seedlings the plant breeder can predict the nature of the variability likely to be present among adult plants.

In experiments involving random statistical models, with plant material representing a population under investigation, the experimenter profits from increasing the size of the plant sample. For example, a series of small diallel experiments may give more information for the same amount of work than a single larger crossing plan. In the series of experiments presented here, however, the limiting stage in the experimental process was not the crossing but the creation of the isogenic pairs. Subsequently therefore it was necessary to intensively study the limited sample available to gather as much information as possible.

## Conclusion

From the data presented in this introductory paper it can be concluded firstly that no immediate simple advantage is conferred in Meadow Fescue by the induction of tetraploidy. The interest for the plant breeder is in the potential new variability created.

The cytological data indicate for this species a manageable level of aneuploidy which appears to decrease in later generations. Such a decrease has been observed in other species (Gilles and Randolph, 1951; Gul Hossain and Moore, 1975), but may not always occur (Morrison and Rajhathy, 1960). A certain level remains, and indeed is found in natural autotetraploid species such as *Dactylis glomerata* (Muntzing, 1937).

The mean comparisons of the two ploidy levels at the seedling stage accord with other published results. The slightly increased variability within tetraploid plots is of interest but is not great enough to interfere with experimentation.

*Reçu pour publication en août 1977.*

## Acknowledgements

For the period of this work the author was on leave from Grasslands Division, DSIR, New Zealand, and receiving a National Research Advisory Council research fellowship. He is indebted to Monsieur P. Mansat, director of the Station d'Amélioration des Plantes fourragères at Lusignan, who made available all the necessary material and facilities and allowed the analysis of his data; and to Professor Y. Demarly, Orsay, and Monsieur A. Gallais, maître de recherches, I.N.R.A., Lusignan, who guided the work throughout.

## Résumé

*Étude comparative d'effets génétiques chez des plantes diploïdes et tétraploïdes isogéniques de* Festuca pratensis Huds.

I. — *Introduction, méthodologie et différences moyennes des caractères.*

L'étude précise des effets du niveau de ploïdie exige l'emploi d'un matériel isogénique. Si plusieurs études ont été publiées, ce travail chez *Festuca pratensis* se base sur un échantillon plus important de la population et comprend des études génétiques plus étendues.

Cet article d'introduction discute les méthodes expérimentales, en particulier l'étude de caractères au stade plantule. Il présente des données cytologiques, les différences moyennes des caractères sur plantules et sur plantes au champ, et des coefficients de la variation non contrôlée.

Aucun apport immédiat d'intérêt agronomique n'a pu être attribué à la tétraploïdie. Mais l'aneuploïdie n'a pas posé de problème chez ce matériel et la faible augmentation de la variation non contrôlée chez les tétraploïdes n'a pas perturbé la précision expérimentale. Un travail de sélection pourrait donc être efficace.

## References

Ahloowalia, B. S., 1967. Colchicine induced polyploids in ryegrass. *Euphytica*, **16**, 49-60.

Ahloowalia, B. S., 1971*a*. Frequency, origin and survival of aneuploids in tetraploid ryegrass. *Genetica*, **42**, 129-138.

Ahloowalia, B. S., 1971*b*. Performance of diploid varieties and their tetraploid progenies in perennial ryegrass. *Ir. J. agric. Res.*, **10**, 333-340.

Barclay P. C., Armstrong, J. M., 1966. Certain aspects of chromosome number and seed size in induced tetraploid pasture plants. *Proc. 10th Int. Grassld Congr.*, 667-671.

Barclay, P. C., Vartha, E. W., 1966. " Grasslands 4707 ": a new tetraploid Western Wolths ryegrass. *Proc. 28th Conf. N.Z. Grassld Assoc.*, 184-194.

Borrill M., Tyler B., Lloyd-Jones M., 1971. Studies in *Festuca*. 1. A chromosome atlas of *bovinae* and *scariosae*. *Cytologia*, **36**, 1-14.

De Lautour G., 1960. A leaf squash technique for chromosome studies in grasses. *N.Z. J. Sci.*, **3**, 293-297.

Easton H. S., 1973. Performance of aneuploids in an autotetraploid ryegrass population. *N.Z. J. agric. Res.*, **16**, 35-37.

Evans P. S., 1967. Aspects of growth and morphology of seedlings of diploid and tetraploid Western Wolths ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam. var *westerwoldicum*). *N.Z. J. Bot.*, **5**, 203-210.

Gallais A., 1972. Competition and breeding for yield in cocksfoot. *Eucarpia Fodder Crops Section*, Dublin, Sept. 1972, 201-232.

Gilles A., Randolph L. F., 1951. Reduction of quadrivalent frequency in autotetraploid maize during a period of ten years. *Am. J. Bot.*, **38**, 12-17.

GRIFFITHS D. J., PEGLER R. A. D., 1966. Cross-fertilisation between diploid and tetraploid ryegrass. *J. Br. Grassld Soc.*, **21**, 162-166.

GRIFFITHS D. J., PEGLER R. A. D., THONGCHAI TONGUTHAISRI, 1971. Cross compatibility between diploid and tetraploid perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Euphytica*, **20**, 102-112.

GUL HOSSAIN M., MOORE K., 1975. Selection in tetraploid rye. 1. Effects of selection on the relationships between seedset, meiotic regularity and plant vigour. *Hereditas*, **81**, 141-152.

HAYES P., 1975. The influence of seed weight on seedling growth in perennial ryegrass, tall fescue and yorkshire fog. *Rec. agric. Res.*, **23**, 33-43.

HAYWARD M. D., 1975. Indirect selection for productivity in *Lolium perenne*. *Report of the Welsh Plant Breeding Station*, 1974, 15-16.

HAYWARD M. D., BREESE E. L., 1968. The genetic organisation of natural populations of *Lolium perenne* L. 3. Productivity. *Heredity, Lond.*, **23**, 357-368.

HILL H. D., MYERS W. M., 1944. Isolation of diploid and tetraploid clones from mixoploid plants. *J. Hered.*, **35**, 359-361.

JADAS-HÉCART J., 1975. Les micro-essais. In « Recherches sur les plantes fourragères, I.N.R.A., Lusignan, 1969-1971 ». *Fourrages*, **62** (suppl.), 41-42.

KNEEBONE W. R., 1972. Breeding for seedling vigor. *In* YOUNGER V. B., MCKELL C. M., *The biology and utilization of grasses*, 90-100, Academic Press, New York and London.

LATTER B. D. H., 1971. Quantitative genetic analysis in *Phalaris tuberosa*. 3. Maternal effects on seedling growth and development. *Genet. Res., Camb.*, **18**, 245-253.

MCWILLIAM J. R., LATTER B. D. H., 1970. Quantitative genetic analysis in *Phalaris* and its breeding implications. *Theoret. appl. Genet.*, **40**, 63-72.

MANSAT P., 1970. Utilisation de la polyploïdie induite. Méthode de création de cultivars tétraploïdes. *In* « Travaux de la Station d'Amélioration des Plantes Fourragères de Lusignan (I.N.R.A.) 1962-1968 ». *Fourrages*, **41**, 29-35.

MANSAT P., RENÉ J. C., 1970. Facteurs morphologiques du rendement au stade adulte: raygrass d'Italie. *In* « Travaux de la Station d'Amélioration des Plantes Fourragères de Lusignan (I.N.R.A.) 1962-1968 ». *Fourrages*, **41**, 108-110.

MANSAT P., PICARD J., BERTHOU F., 1966. Value of selection at diploid level before tetraploidization. *Proc. 10th Int. Grassld Congr.*, 671-676.

MORRISON J. W., RAJHATHY T., 1960. Frequency of quadrivalents in autotetraploid plants. *Nature, Lond.*, **187**, 528-530.

MUNTZING A., 1937. The effects of chromosomal variation in *Dactylis*. *Hereditas*, **23**, 113-235.

MYERS W. M., 1939. Colchicine induced tetraploidy in perennial ryegrass. *J. Hered.*, **30**, 499-504.

PATEL A. S., COOPER J. P., 1961. The influence of seasonal changes in light energy on leaf and tiller development in ryegrass, timothy and meadow fescue. *J. Br. Grassld Soc.*, **16**, 299-308.

RANDOLPH L. F., 1941. An evaluation of induced polyploidy as a method of breeding crop plants. *Amer. Nat.*, **75**, 347-363.

RHODES I., 1973. The relationship between productivity and some components of canopy structure in ryegrass (*Lolium* spp). 3. Spaced plant characters, their heritabilities and relationship to sward yield. *J. agric. Sci., Camb.*, **80**, 171-176.

SIMONSEN O., 1973. Cytogenetic investigations in diploid and autotetraploid populations of *Lolium perenne* L. *Hereditas*, **75**, 157-188.

SIMONSEN O., 1975. Cytogenetic investigations in diploid and autotetraploid populations of *Festuca pratensis*. *Hereditas*, **79**, 73-108.

THOMAS R. L., 1966. The influence of seed weight on seedling vigour in *Lolium perenne*. *Ann. Bot.*, **30**, 111-121.

VAN BOGAERT G., 1975. A comparison between colchicine induced tetraploid and diploid cultivars of *Lolium* species. *Eucarpia Fodder Crops Section*, Zurich, April 1975, 61-73.

WIT F., SPECKMAN G. J., 1954. Breeding of tetraploid ryegrasses. *Proc. Europ. Grassld Conf.*, *Paris*, 75-79.

WIT F., SPECKMAN G. J., 1955. Tetraploid westerwolths ryegrass. *Euphytica*, **4**, 245-253.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (5), 577-585.

# Détermination des virus latents conditionnant l'incompatibilité au greffage de la variété de pommier « Charden »

J. LEMOINE

*Station d'Arboriculture fruitière, I.N.R.A., Beaucouzé, 49000 Angers*

## Résumé

La variété « Charden » issue du croisement « Golden Delicious » × « Reinette Clochard » a montré une très nette incompatibilité au greffage lors de sa multiplication sur les porte-greffes M.7, M.9 et M.25, infectés par des maladies à virus.

Un essai de contamination artificielle de marcottes saines de MM.106 a été réalisé à l'aide de trois souches de Chlorotic leaf spot (C.L.S.V.) et trois souches de Stem pitting (S.P.V.). Le phénomène d'incompatibilité a été induit à la variété « Charden » par la maladie du Stem pitting.

La manifestation de cette incompatibilité varie avec le mode et l'époque de greffage sans qu'il soit possible d'en proposer actuellement une explication satisfaisante.

## Introduction

L'incompatibilité au greffage du pommier a surtout été observée, dans le cas d'associations interspécifiques au sein du genre *Malus*. Les analyses ultérieures qui ont été faites ont conduit à mettre en cause des infections virales et non pas des incompatibilités génétiques. Dans quelques cas, certaines espèces ont d'ailleurs été choisies comme indicatrices de maladies à virus pour les variétés cultivées (*Malus pumila* Mill.).

Dès 1938, McClintock signale des incompatibilités de quelques variétés de pommier lors de leur greffage sur l'intermédiaire « Virginia Crab ». Cet intermédiaire s'est révélé par la suite être un indicateur de la maladie du Stem pitting (Tukey *et al.*, 1954).

Gardner en 1946 observe l'incompatibilité de quelques variétés de pommier sur le porte-greffe « Spy 227 » (clone sélectionné dans un semis de « Northern spy » pour sa résistance au puceron lanigère). Ces incompatibilités sont induites par la maladie virale affectant ces variétés décrite sous le nom de Spy epinasty and decline.

En Corée et au Japon, OH (1973) et YANASE (1974), signalent la mauvaise reprise et la mortalité de pommiers âgés de 2 à 5 ans lors de leur greffage sur *Malus sieboldii* et *Malus prunifolia*. Le Chlorotic leaf spot et le Stem pitting seraient les responsables de ces incompatibilités.

Ces mêmes virus induisent une mortalité plus ou moins rapide des variétés contaminées lors de leur greffage sur *Malus robusta 5* (WELSH et SPANGELO, 1971).

CAMPBELL observe une mortalité ou une croissance très faible de variétés de nombreuses espèces de *Malus* lors de leur multiplication sur les porte-greffes M.7 et M.2, porte-greffes contaminés principalement par du Chlorotic leaf spot et du Stem pitting.

En effectuant des écussonnages de variétés de pommier contaminées au Stem pitting sur des semis issus de variétés de pommier apomictiques, SCHMIDT (1972 *a-b*) met en évidence une sensibilité particulière à ce virus de ces semis utilisés comme porte-greffes.

Lors de la multiplication de la variété « Charden » (hybride « Golden Delicious » × « Reinette Clochard » sélectionné par l'I.N.R.A. à la Station d'Arboriculture fruitière d'Angers), DECOURTYE et LANTIN ont constaté sur une gamme de 14 porte-greffes clonaux, une mauvaise affinité de cette variété sur M.7, M.7a, M.9, M.9a, M.25 et MM.109. Afin de déterminer les causes de cette incompatibilité, deux essais ont été mis en place.

## Premier essai

### I. — *Matériel et méthodes*

Cet essai avait pour but de déterminer si cette incompatibilité était de nature génétique ou si elle avait une origine virale. Pour contrôler cette dernière hypothèse, des marcottes de MM.106 indemnes de viroses connues ont été écussonnées au mois d'août 1969 par les clones de porte-greffes M.7, M.9 et M.25 naturellement infectés par plusieurs maladies à virus.

Au mois d'août de l'année suivante, des écussons de la variété « Charden » ont été implantés d'une part sur les pousses des divers porte-greffes et d'autre part sur les repousses issues du porte-greffe MM. 106 précédemment contaminé (fig. 1).

Les témoins de référence étant assurés par l'écussonnage de la variété « Charden » sur des MM.106 autogreffés.

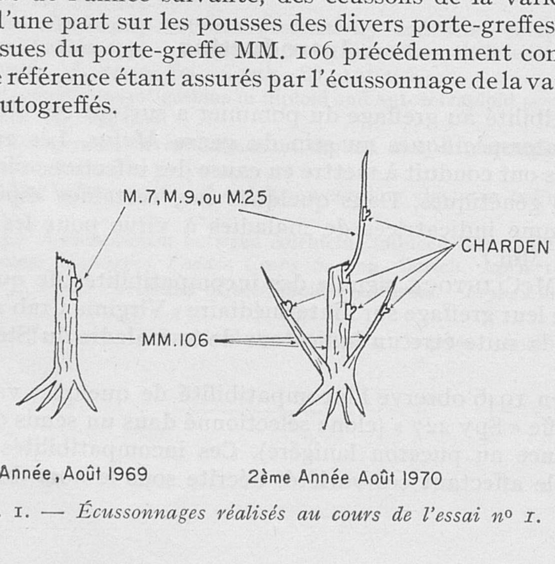



FIG. 1. — *Écussonnages réalisés au cours de l'essai n° 1.*

## II. — *Résultats*

Les observations ont été réalisées en 1971 soit un an après l'écussonnage de la variété « Charden ». La reprise des écussons et la croissance sont normales sur les arbres témoins MM.106 non contaminés (tableau 1). Pour les autres combinaisons, à savoir la variété « Charden » écussonnée sur les repousses de MM.106 contaminées par M.7, M.9 et M.25 et « Charden » écussonnée sur les pousses de M.7, M.9 et M.25 greffées sur MM.106, l'œil de l'écusson ne manifeste aucune croissance. Les tissus de l'écusson sont encore vivants au début de l'été mais ils se nécrosent et dépéris-

TABLEAU 1

*Reprise des écussons de « Charden » (essai 1)*

| | Nombre de sujets | |
|---|---|---|
| | Écussonnés | Repris |
| « Charden » écussonnée sur MM.106 (Témoin) . . . | 40 | 40 |
| « Charden » écussonnée sur repousses de MM.106 inoculées par : | | |
| M.7 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . | 38 | 0 |
| M.9 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . | 40 | 1 |
| M.25 . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . | 36 | 0 |
| « Charden » écussonnée sur : | | |
| M.7 greffé sur MM.106 . . . . . . . . . . | 37 | 0 |
| M.9 greffé sur MM.106 . . . . . . . . . . | 39 | 0 |
| M.25 greffé sur MM.106 . . . . . . . . . | 38 | 0 |

TABLEAU 2

*État sanitaire des porte-greffes*

| Inoculum | Indicateurs | | | |
|---|---|---|---|---|
| | M. Platycarpa | Spy 227 | Virginia Crab | Lord Lambourne |
| M.7 . . . . . . . . | CLSV | CLSV SEDV | SPV | RW |
| M.9 . . . . . . . . | CLSV | CLSV SEDV | SPV | RW |
| M.25 . . . . . . . . | CLSV | CLSV SEDV | SPV | — |

CLSV : Chlorotic leaf spot; SEDV : Spy Epinasty and decline; SPV : Stem pitting; RW : Rubbery Wood.

sent en fin de saison végétative (DECOURTYE *et al.*, 1976). Il faut toutefois remarquer que dans la combinaison « Charden » greffée sur repousses de MM. 106 contaminées par M.9, un seul sujet a eu une faible croissance.

Les résultats de l'indexage des porte-greffes M.7, M.9 et M.25 utilisés dans cette expérience, montrent qu'ils sont tous les trois contaminés par du Chlorotic leaf spot et du Stem pitting (tableau 2). Le Rubbery wood est présent seulement chez les porte-greffes M.7 et M.9.

Le fait que la variété « Charden » soit incompatible avec les pousses de M.7, M.9 et M.25 et avec les repousses de MM.106 contaminées par les viroses des précédents porte-greffes démontre que cette incompatibilité est induite par la présence de maladie à virus. Il apparaît en outre que seuls les virus du S.P.V. et du C.L.S.V. présents dans toutes les combinaisons doivent être les facteurs responsables de cette incompatibilité. Il reste à préciser si cet effet résulte de leur association ou peut être induit par chacun des deux virus pris isolement.

## Deuxième essai

### I. — *Matériel et méthodes*

Les résultats obtenus au cours du premier essai montrent que deux maladies d'origine virale peuvent être en cause dans ce phénomène d'incompatibilité. Afin d'identifier l'agent responsable, des marcottes de MM.106 saines ont été contaminées par :

— Trois souches de Chlorotic leaf spot (C.L.S.V.) hébergés par des clones de porte-greffes M.2, M.9 et la variété « Reinette du Mans ».

— Trois souches de Stem pitting (S.P.V.) hébergés par des clones de porte-greffes M.9, MM.109 et la variété « Golden Delicious ».

Ces six inoculums, obtenus après traitement des clones malades par thermothérapie, sont indemnes d'autres maladies à virus connues et plus particulièrement du virus du Stem grooving (S.G.V.).

Les témoins étaient des marcottes de MM.106 non inoculées et des marcottes inoculées par un complexe C.L.S.V. + S.P.V.

La variété « Charden » a, par la suite, été greffée :

- selon deux techniques :
  - — écussonnage,
  - — greffage en anglaise de côté (le greffon ayant seulement un œil végétatif).
- à 3 époques différentes :
  - — 10 jours après la contamination, fin août 1972, obs. juin 1973 = 10 mois
  - — 8 mois après la contamination, début mai 1973, obs. juin 1973 ≃ 1,5 mois
  - — 12 mois après la contamination, fin août 1973, obs. mai 1974 = 9 mois

L'essai a porté sur 480 sujets :

- État sanitaire 8 (7 inoculums + 1 témoin sain).
- Type de greffage 2.
- Époque de greffage 3.
- Nombre de répétition 10.

## II. — *Résultats*

Les observations ont porté sur la reprise des écussons et des greffes au mois de juin 1973 pour les greffages d'août 1972 et mai 1973 et au mois de mai 1974 pour les greffages d'août 1973.

Les écussons et les greffes de « Charden » ont une bonne reprise sur MM.106 non inoculé ou contaminé par du C.L.S.V., quelles que soit l'époque de greffage et l'origine de la souche (tableau 3).

TABLEAU 3

*Incidence de l'état sanitaire et de l'époque de greffage sur la reprise des greffes et des écussons de la variété « Charden »*

(nombre de greffes et d'écussons repris sur un total initial de 10)

| Inoculum | Époque de greffage | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 10 j après inoculation | | 8 mois après inoculation | | 12 mois après inoculation | |
| | Écusson | Greffe | Écusson | Greffe | Écusson | Greffe |
| Témoin sain | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| CLSV (M.2) | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| CLSV (M.9) | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| CLSV (R. du Mans) | 10 | 10 | 9 | 10 | 10 | 10 |
| SPV (M.9) | 10 | 10 | 6 | 8 | 0 | 8 |
| SPV (MM.109) | 10 | 10 | 4 | 6 | 0 | 6 |
| SPV (Golden Del.) | 10 | 10 | 6 | 8 | 0 | 8 |
| Témoin SPV + CLSV | 10 | 10 | 4 | 5 | 0 | 1 |

En présence du Stem pitting, les écussons et les greffes présentent :

— une reprise normale lorsque la variété « Charden » est greffée 10 jours après la contamination;

— une reprise moyenne (environ 50 p. 100 des écussons et 70 p. 100 des greffes) lorsque la variété est greffée 8 mois après la contamination;

— une reprise nulle 12 mois après la contamination pour les écussons et en moyenne (70 p. 100 environ) pour les greffes.

En présence de l'association C.L.S.V. + S.P.V., on retrouve l'incompatibilité totale induite dans le premier essai, du moins lorsque la contamination a eu lieu un an avant l'écussonnage.

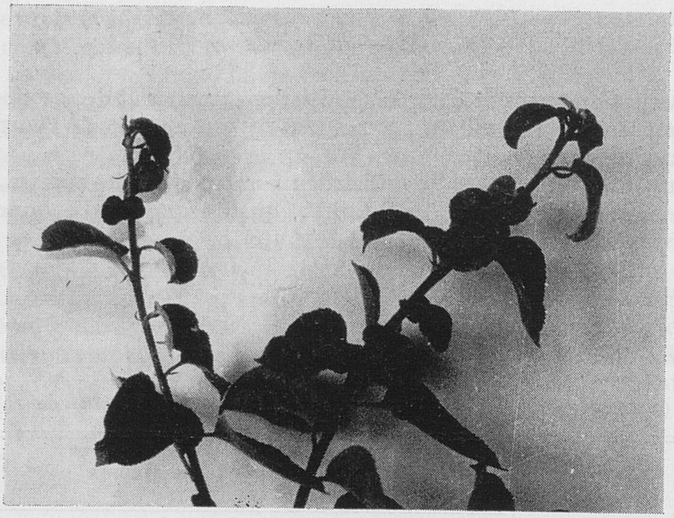


FIG. 2. — *Tassement des derniers entre-nœuds et épinastie du feuillage.*

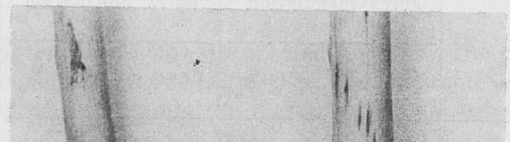


FIG. 3. — *Stem pitting sur scions de « Charden » — (à gauche, témoin non inoculé).*

La croissance des sujets ayant repris, a permis d'observer plus ou moins rapidement en fonction de la date de greffage, des modifications morphologiques. L'expression la plus précoce de ces modifications ayant lieu sur les sujets greffés 12 mois après la contamination, l'expression la plus tardive se manifestant sur les sujets greffés 10 jours après la contamination.

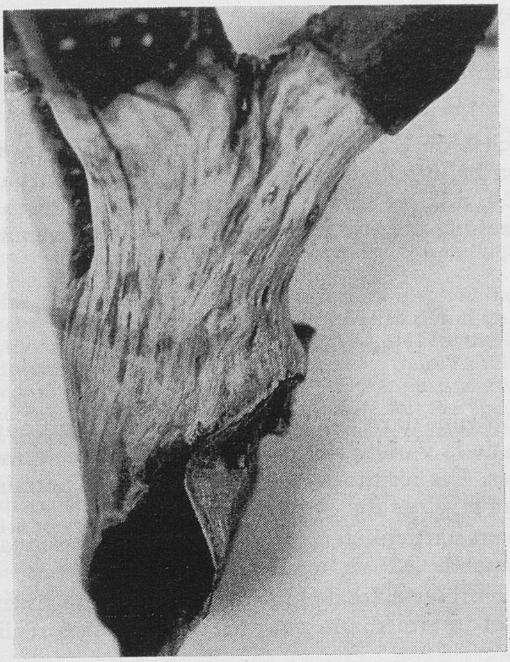


FIG. 4. — *Stem pitting et décollement de « Charden » après surgreffage.*

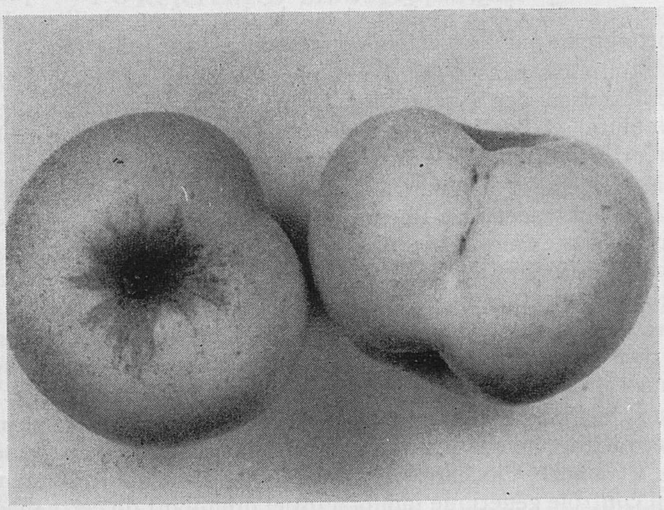


FIG. 5. — *Déformation des fruits de « Charden » induite par le Stem pitting.*

Le S.P.V. provoque :

— un tassement des derniers entrenœuds des pousses de l'année, (fig. 2);
— une épinastie du feuillage s'aggravant au cours de la croissance;
— la formation dans le bois de « Charden » de cannelures visibles en soulevant

l'écorce (symptômes identiques à ceux observés sur « Virginia Crab », indicateur classique du S.P.V.), (fig. 3 et 4);
— une déformation des fruits, ressemblant à celle décrite sur l'indicateur « Virginia Crab » sous la dénomination de flat fruit (fig. 5).

Les trois souches de C.L.S.V. n'induisent pas de symptômes visibles si ce n'est une réduction habituelle de la surface foliaire d'environ 25 p. 100. Dans le cas du complexe C.L.S.V. + S.P.V., les symptômes décrits en présence du S.P.V. sont exacerbés avec une nécrose plus ou moins nette des cannelures du bois.

## Discussion et conclusions

Les résultats obtenus dans le premier essai ont conduit à imputer la mauvaise affinité au greffage de la variété « Charden » à la présence de virus chez les porte-greffes expérimentés. Les résultats du second essai ont permis de préciser le rôle primordial joué par le virus du Stem pitting (S.P.V.).

Les résultats sont particulièrement nets pour les écussonnages réalisés 12 mois après l'inoculation par le S.P.V., quelle que soit la souche.

Par contre, la reprise est totale lorsque les écussonnages sont réalisés 10 jours après l'inoculation et intermédiaire pour les écussonnages réalisés 8 mois après la même inoculation.

L'explication de ces différences dans le taux de reprise nécessiterait des recherches complémentaires sur les phénomènes histologiques qui président à l'union du porte-greffe et du greffon et sur la dynamique de l'envahissement des tissus du porte-greffe par les particules virales après inoculation.

On peut toutefois penser que l'état physiologique du porte-greffe intervient dans la manifestation des symptômes. Le niveau de dormance des méristèmes (apex et cambium) et l'activité racinaire sont par exemple très différents entre l'inoculation et le dernier écussonnage qui se situe un an après.

La reprise nettement meilleure des greffes 8 mois et 12 mois après l'inoculation ne peut pas non plus recevoir à l'heure actuelle d'explication satisfaisante. Il faut souligner toutefois que dans beaucoup de cas connus de mauvaise affinité de nature virale ou génétique, le greffage conduit à des résultats régulièrement meilleurs que l'écussonnage (MARENAUD, 1974).

Les arbres obtenus après écussonnage ou greffage sur porte-greffes contaminés par le Stem pitting présentent néanmoins à plus ou moins long terme (1 à 5 ans) des symptômes d'incompatibilité qui peuvent conduire à un rejet différé.

L'examen de l'affinité au greffage, sur des porte-greffes contaminés par le virus du stem pitting, de 115 hybrides de la descendance du croisement « Golden Delicious » × « Reinette Clochard », dont est issue la variété « Charden », a conduit à proposer un contrôle génétique monofactoriel dominant de cette incompatibilité. Les résultats sont parfaitement en accord avec une disjonction 1-1 (DECOURTYE *et al.*, 1976).

*Reçu pour publication en avril 1977.*

## Summary

*Graft incompatibility with the apple cultivar « Charden », induced by Stem pitting Virus*

In propagating by budding unselected seedlings from the cross « Golden Delicious » × « Reinette Clochard », it appears that half the progeny fails to burst when the clonal rootstocks were carrying latent viruses. The data agree with a control of this incompatibility by one dominant gene.

An experiment was engaged to determine the factors involved in this incompatibility. Virus-free MM.106 clonal rootstock was inoculated with three strains of Chlorotic Leaf Spot virus (C.L.S.V.) and three strains of Stem pitting virus (S.P.V.). Then these contaminated stocks were budded or grafted with the cultivar « Charden » at three times : 10 days, 8 and 12 monthes after inoculation. Compatibility was very good on the control (virus free MM.106) and the stocks carrying C.L.S.V. The results were different and variable for the stocks contaminated with S.P.V. Compatibility was very good when budding takes place 10 days after inoculation and fair 8 monthes after inoculation. Incompatibility was recorded when budding takes place 12 monthes after inoculation.

In the case of grafting, at each time, the compatibility was improved compared to budding. However all trees budded or grafted on rootstocks inoculated by S.P.V. show symptoms of incompatibility, one or several years after.

These results show that the factor involved in this specific incompatibility is the Stem pitting virus. The best results obtained with grafting, and with budding just after inoculation, cannot be clearly explained, except by differences in the physiological status of the plants.


## Références bibliographiques


CAMPBELL A. I., 1962. The effect of some apple viruses on the growth of *Malus* species and varieties. *J. hort. Sci.*, **37**, 239-246.

DECOURTYE L., LANTIN B. et MARTIN Denise, 1976. Genetic control of hypersensibility to stem pitting virus in apple tree *M. pumila* (Mill). (Sous presse).

GARDNER F. E., MARTH P. C., MAGNESS J. R., 1946. Lethal effects of certain apple scions on Spy 227 stock. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **48**, 195-199.

MARENAUD C., 1974. Incompatibilité engendrée par le Chlorotic leaf spot chez les arbres fruitiers. Communication orale au *Colloque Franco-Israélien sur la relation greffon — porte-greffe des arbres fruitiers*, Bordeaux, Nov. 1974.

MCCLINTOCK J. A., 1938. The affinity of varieties other than Grimes on « Virginia Crab » stock. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **36**, 131-132.

OH S. D., HONG S. B., KIM Y. H., KIM K. R., KIM Y. K., PARK M. J., 1973. Studies on a virus disorder of top worked apple trees. I. A survey on the occurence of virus disorder of top worked apple tree in Korea. *Res. Rep. Office Rural Dev. Hort.*, **15**, 59-65.

SCHMIDT H., 1972. *a*) Reaction of 25 apomictic apple rootstock selections to inoculation with mixtures of " latent " viruses. *J. hort. Sci.*, **47**, 151-157.

SCHMIDT H., 1972. *b*) The effect of " latent " virus infections on the yield of maiden trees on 20 apomictic apple seedling rootstocks. *J. hort. Sci.*, **47**, 159-163.

TUKEY R. B., KLACKLE R. L., MCCLINTOCK J. A., 1954. Observations on the uncongeniality between some scion varieties and Virginia Crab stocks. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **64**, 151-155.

WELSH M. F. et SPANGELO L. P. S., 1971. Necrotic stem pitting and decline, two buds transmissibles diseases affecting *Malus robusta 5* apple rootstocks in British Columbia but not Eastern Canada. *Phytoprotection*, **52** (2), 58-67.

YANASE H., 1974. Studies on apple latent virus in Japan — The association of apple top working disease with apple latent virus. *Bull. Fruit Tree Res. Stn. Japan*, Ser. C, **1**, 47-109.

## Summary

### Graft incompatibility with the apple cultivar « Charden » (Golden Delicious × Cox's Orange Pippin)

In propagating by budding onto virus-free seedlings from the cross « Golden Delicious × Cox's Orange Pippin », it appears that the incompatibility arises where the clonal rootstocks were carrying latent viruses. The data agree with a control of this incompatibility by one dominant gene.

An experiment was designed to determine the factors involved in this incompatibility. Virus-free MM 106 clonal rootstock was inoculated with three strains of Chlorotic Leaf Spot virus (C.L.S.V.) and three strains of Stem-pitting virus (S.P.V.). Then these contaminated stocks were budded or grafted with the cultivar « Charden » at three times: 10 days, 6 and 12 months after inoculation. Compatibility was very good on the control (virus-free MM 106) and the stocks carrying C.L.S.V. The results were different and variable for the stocks contaminated with S.P.V. Compatibility was very good when budding taken place 10 days after inoculation and [illegible] incompatibility was [illegible] when budding takes place six months after inoculation.

In the case of grafting, at each time, the compatibility was improved compared to budding. However all trees budded or grafted on rootstocks inoculated by S.P.V. show symptoms of incompatibility one or several years after.

These results show that the factors involved in this specific incompatibility is the Stem-pitting virus. The best results obtained with grafting and with budding just after inoculation, cannot be clearly explained, except by differences in the physiological status of the plants.

## Références bibliographiques

[illegible] A. [illegible], 19[illegible]. — The effect of some apple viruses on the growth of *Malus* species and varieties. *[illegible]*, 37, 1[illegible].

[illegible] M., [illegible] H., [illegible], 19[illegible]. — [illegible] of apple [illegible] to stem [illegible] (sous presse).

[illegible] F. E., MARTIN H., [illegible] J. R., 19[illegible]. — Further effects of certain apple [illegible] virus stock. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 48, [illegible].

[illegible] C., 19[illegible]. — Incompatibilité engendrée par le Chlorotic leaf spot chez les arbres fruitiers. [illegible]. Bordeaux, [illegible].

[illegible] J. [illegible], 19[illegible]. — The [illegible] of varieties [illegible] « Virginia Crab ». *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 88, [illegible].

[illegible] R., KIRBY R., KIRK K. R., KIM Y. K., [illegible] M. J., 19[illegible]. — Studies on a virus [illegible] apple trees. [illegible] of clonal rootstock [illegible].

[illegible] H., 19[illegible]. — Reaction of 25 apple rootstock selections to inoculation with latent virus. *J. Hort. Sci.*, 41, [illegible].

[illegible] of virus [illegible] apple [illegible].

[illegible] R. [illegible], [illegible] J. W., 19[illegible]. — Observations on the incompatibility between some apple varieties and Virginia Crab stocks. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 84, [illegible].

[illegible] M. [illegible], 19[illegible]. — [illegible] stem pitting and [illegible] two [illegible] apple viruses affecting [illegible] apple varieties in [illegible] Columbia and [illegible] Canada. *Phytopathology*, 52 (1), [illegible].

[illegible] K., 19[illegible]. — Studies on apple latent virus in Japan. — The association of apple top working disease with apple latent virus. *Bull. Fruit Tree Res. Sta. Japan*, Ser. C, 1, [illegible].

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (5), 587-602.

# Observations sur les teneurs en chlorophylle et en cynarine, et sur la structure des chloroplastes d'un mutant d'artichaut (*Cynara scolymus* L.) à feuilles jaunes

C. FOURY (1), Brigitte CADILHAC* et S. AUBERT**

*Station d'Amélioration des Plantes maraîchères,*
**Station de Pathologie végétale,*
*Centre de Recherches Agronomiques d'Avignon, I.N.R.A.,*
*Domaine Saint-Maurice, 84140 Montfavet*

***Station de Technologie de Produits végétaux,*
*Centre de Recherches agronomiques d'Avignon, I.N.R.A.,*
*Domaine Saint-Paul, 84140 Montfavet*

## Résumé

Un mutant à feuilles jaunes est apparu dans une lignée d'Artichaut cv. « Romanesco ». Le caractère est monofactoriel récessif, il est appelé « j ». La teneur en chlorophylle, surtout *b*, des feuilles analysées décroît de « $j^+j^+$ » à « $jj$ »; l'hétérozygote, intermédiaire, ne peut se distinguer à l'œil. La teneur en cynarine diminue dans le même sens. Les chloroplastes de « $jj$ », assez peu nombreux, sont pauvres en grana. Le génotype « $j^+j$ » présente deux types de plastes l'un proche de « $jj$ », l'autre de « $j^+j^+$ ».

L'intérêt du mutant comme marqueur génétique paraît limité. Par contre sa faible teneur en cynarine pourrait se révéler intéressante dans un programme d'amélioration des qualités marchandes et de l'aptitude à la conserve.

## Introduction

Dans un jeune semis d'Artichaut, nous avons repéré, au printemps 1974, des plantes à cotylédons puis à feuilles jaunes. Leur fréquence (12 sur 71 plantes observées) relativement proche de 1 : 3 nous a incité à autoféconder de nouveau la plante-mère (une $I_3$ du cultivar « Romanesco » appelée « RI 5.1.11 »). Nous avons obtenu pour la deuxième fois une disjonction proche de 1:3 soit 16 plantes jaunes sur 79 observées.

(1) Adresse actuelle : Chaire de culture légumière et grainière, E.N.S.H., 78000 Versailles.

Un caractère morphologique bien visible dès le stade plantule est précieux dans un programme d'amélioration; aucun ne paraît avoir été signalé à ce jour chez l'Artichaut. Pour en préciser l'hérédité nous avons autofécondé des plantes « jaunes » et « vertes », croisé les deux types. Pour en mieux connaître la nature nous avons cherché à mesurer la teneur en chlorophylle, à compter les chloroplastes et à observer leur ultrastructure.

Les incidences métaboliques de la mutation peuvent être importantes pour les utilisations en pharmacie et industrie alimentaire. L'intérêt thérapeutique de la cynarine ou acide 1.5 dicafeyl-quinique est bien établi (PREZIOSI P., 1967; MARZI *et al.*, 1975). Les substrats polyphénols associés ou non à des anthocyanes et à la chlorophylle sont responsables du noircissement, de l'astringence et de l'amertume des denrées. Pour en aborder l'étude nous avons effectué quelques évaluations des composés orthodihydroxyphénoliques sur des extraits de limbe foliaire.

## Matériel et méthodes

### 1. — *Obtention et observation des plantes*

Les semences ont été produites selon les méthodes habituelles d'autofécondation et de croisement (C. FOURY, 1967). Les descendances ont été observées plante par plante, la coloration des feuilles notée, les disjonctions établies et testées. Nous nous sommes efforcés, en outre, de comparer le comportement des différentes lignées. En particulier, nous avons déterminé la longueur du cycle du semis au stade A, c'est-à-dire à l'apparition du capitule au fond de la rosette de feuilles.

### 2. — *Analyse d'extraits de limbe foliaire par spectroscopie*

a) *Essai d'extraction ménagée* (juin-août 1976)

Dix plantes de chacun des 3 génotypes sont tirées au sort; la troisième feuille dépliée est prélevée. Sur chacune, nous avons découpé 10 disques de 1,2 cm de diamètre en évitant les nervures.

Les 100 fragments de limbe dont la surface totale atteint 113,09 cm² ont d'abord diffusé dans 250 ml d'éthanol 96 G.L. pendant 18 heures à O °C environ et à l'obscurité; les chlorophylles et xantophylles hydroxylées, les plus facilement extractibles en raison de leur liaison avec le substrat et de leur localisation tissulaires sont recueillies. Puis les mêmes disques ont été broyés et placés durant un mois à 0 °C et à l'obscurité dans 250 ml du mélange : éthanol 96 G.L. (47,5 p. 100 en volume), acétone (47,5 p. 100), chloroforme (5 p. 100).

Nous avons d'abord cherché à exprimer la couleur des extraits selon un mode synthétique comme cela a déjà été fait pour l'aubergine (AUBERT S. et NOVOA D., 1975). Un appareil Beckmann DK2A donne les tracés spectrographiques en transmission, dans tout le domaine du visible et dans des conditions parfaitement définies et reproductibles (Source C, cuves de 10 mm). Les données chromatiques de l'extrait sont comparées suivant la méthode tristimulaire de Hardy; la coloration apparente est exprimée objectivement mais en tenant compte d'une perception visuelle standardisée.

A partir des tracés spectrographiques en densités optiques, les concentrations en chlorophylles sont calculées d'après Wintermans et de Mots (1965) :

- chlorophylle *a* : $13{,}70 A_{665 n.m.} - 5{,}76 A_{649 n.m.}$
- chlorophylle *b* : $25{,}80 A_{649 n.m.} - 7{,}60 A_{665 n.m.}$
- chlorophylle totale : $\frac{1\,000 A_{654 n.m.}}{39{,}8}$ (en microgrammes/ml d'extrait)

b) *Essai d'extraction totale* (janvier 1977)

Après élimination de la nervure principale, un poids défini de demi limbes est broyé et épuisé à l'éthanol 96 G.L. jusqu'à l'obtention d'une dernière liqueur incolore. Après la quatrième extraction ethanolique les résidus de feuilles sont légèrement brun jaunâtre; une dernière extraction au mélange éthanol, acétone, chloroforme donne une liqueur incolore à très peu jaune. Les chlorophylles visibles ont donc été totalement extraites; elles sont dosées, sur l'ensemble des extraits éthanoliques, par les méthodes précédentes.

3. — *Dosage des dérivés de la cynarine dans les limbes foliaires* (janvier 1977)

Les demi-limbes complémentaires des précédents et pesant de 13 à 15 g de matière fraîche ont été broyés dans 150 ml d'un milieu faiblement chlorhydrique (0,06 N). Les composés orthodihydroxyphénols totaux sont dosés, selon la technique de NICHOFORESCU et COUCOU (1965) à l'aide du réactif de ARNOW (1937), sur une aliquote de 2 ml de la liqueur aqueuse filtrée sur lit de célite. Une courbe étalon est établie avec de l'acide chlorogénique pur (Serlabo) : elle est linéaire entre 0,2 et 1 mg d'acide chlorogénique pur pour les 50 ml de milieu réactionnel; sa pente est 0,285. Les résultats sont donc exprimés en équivalent d'acide monocafeylquinique. Le rang des feuilles est déterminé de haut en bas, à partir du premier limbe déplié, c'est-à-dire approximativement le huitième depuis l'apex.

4. — *Extraction des chloroplastes pour examen au microscope photonique*

Des feuilles des génotypes $j^+j^+$ et « *jj* » sont échantillonnées comme précédemment. Les nervures sont détachées et le limbe tranché en lanières dont on prélève une certaine quantité pour broyage à 0 °C dans le mélange (vol/poids) :

- saccharose : 0,25M.
- tris : 0,025M tamponné à pH 7,2.
- acétate de magnesium : 0,001M.
- 2 mercapto-éthanol : 0,004M.

Le broyat obtenu est filtré sur une double étamine. Le filtrat est centrifugé à 1 000 g pendant 15 mn; le surnageant est jeté et le culot remis en suspension dans 5 cm³ du milieu précédent à l'aide d'une baguette de verre enveloppée de coton de laine.

Par ailleurs, un gradient discontinu de densités est constitué par 3 couches de 10 ml de sucrose à 60 p. 100, puis 45 p. 100 et enfin 20 p. 100, dans 0,01M tris et 0,001M bichlorure de magnésium tamponné à pH 8,2 (SPENCER D., 1964). Ce gradient est mis au repos pendant une nuit à 3-4 °C. On y dépose alors 2 ml de la suspension chlorophyllienne, on centrifuge à 22.000 g pendant 2 h dans un rotor SW 25 Beckmann. Une partie de la bande I est prélevée, puis diluée au dixième; placée dans un hematimètre Thoma de 0,1 mm de profondeur, chaque petit carré mesurant 0,05 mm. Elle est observée en microscopie photonique au grossissement × 400.

5. — *Préparation des fragments de feuilles pour examen en microscopie électronique*

Les limbes foliaires sont découpés en lanières de quelques mm² puis plongés dans un mélange fixateur-tampon (glutaraldehyde à 4 p. 100, dans du tampon cacodylate 0,1 M; pH : 7,3); à froid et pendant 4 h. Ils sont ensuite rincés plusieurs fois dans le même tampon dont la pression osmotique est augmentée avec du glucose, jusqu'à 500-550 m osm. Ils sont alors post-fixés à l'osmium à 1 p. 100 puis inclus dans l'aradilte M après déshydratation et imprégnation progressive dans un gradient croissant d'acétone et d'oxyde de propylène.

## Résultats et discussion

### 1. — *Hérédité et manifestation du caractère jaune*

La disjonction de « RI 5.1.11 ⊕ » en 16 plantes jaunes et 63 vertes suggère que le caractère jaune est monofactoriel récessif; nous le nommerons « *j* », l'allèle dominant étant « *j*+ ». Aucune des disjonctions observées ultérieurement ne s'écarte significativement de cette hypothèse (tabl. 1). Toutefois, les plantes normales

TABLEAU 1

*Étude des disjonctions*

| Croisements et autofécondations | Disjonctions attendues | Effectifs observés | | $\chi^2_c$ calculés | Probabilités d.d.l. = 1 | Excès de vert en % vert théorique |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | verts | jaunes | | | |
| $j^+j^+$ ⊕ . . . . . . | 1:0 | 45 | 0 | | | |
| $j^+j^+ \times jj$ . . . . | 1:0 | 80 | 0 | | | |
| $jj$ ⊕ . . . . . . . | 0:1 | 0 | 112 | | | |
| $j^+j$ ⊕ . . . . . . | 3:1 | 62 | 14 | 1,421 | 0,24 | 8,77 |
| | | 62 | 12 | 2,594 | 0,15 | 11,71 |
| | | 287 | 80 | 1,839 | 0,19 | 2,91 |
| $j^+j \times jj$ . . . . . | 1:1 | 7 | 5 | 0,083 | 0,84 | 16,66 |
| $jj \times j^+j$ . . . . . | | 60 | 49 | 0,917 | 0,72 | 11,11 |

$\chi^2_c$ = chi deux corrigés de YATES.

(vertes) sont constamment en excès et ce d'autant plus que le taux attendu de jaune est plus élevé : environ 12 p. 100 pour la disjonction 1:1 contre 3 p. 100 pour 3:1. Des malformations létales, en particulier l'absence de bourgeon terminal, peuvent être repérées sur les plantules jaunes, mais leur fréquence est trop faible pour modifier la signification des disjonctions. Les taux de germination des 3 génotypes semblent voisins. La moindre viabilité des gamètes « *j* » pourrait donc être déterminante, mais les taux de nouaison observés jusqu'à présent ne varient pas significativement avec les combinaisons. De plus les disjonctions de « $j^+j$ » × « *jj* » et de « *jj* » × « $j^+j$ » ne diffèrent pas ($\chi^2_c = 0{,}008$; *ddl* = 1) nous ne pouvons donc pas préciser le rôle éventuel des gamètes mâle et femelle.

Les cotylédons puis les premières feuilles de « *jj* » sont toujours jaunes; leur repérage est donc facile à ces stades précoces. Par la suite les feuilles, notamment celles de la hampe florale, peuvent verdir plus ou moins soit sur toute leur surface, soit plus rarement, en chimère. Nous n'avons remarqué aucune autre modification morphologique, en particulier les capitules demeurent violet foncé. La mutation ne perturbe apparemment pas la synthèse des anthocyanes; nous verrons que ce n'est pas le cas pour celle des acides cafeylquiniques.

Les plantes jaunes sont, tout au long du cycle, moins vigoureuses que les vertes; pour celles-ci l'influence du génotype n'a pu être détectée. Leur développement et leur croissance sont plus lents (tabl. 2). Il s'ensuit une floraison généralement plus tardive d'une huitaine de jours.

TABLEAU 2

*Comparaison de la longueur du cycle* (durée semis-stade A en jours)

| Saisons de culture \ Phénotypes | 1 : jaune | 2 : vert | *t* 1-2 calculé | Probabilités |
|---|---|---|---|---|
| Été 1975 (cycle court) . . . | 144 | 138 | 13,40 | > 0,001 |
| Printemps 1975 (cycle long) | 259 | 238 | 8,43 | > 0,001 |
| Printemps 1976 . . . . . | 270 | 250 | 11,12 | > 0,001 |

TABLEAU 3

*Variation de la matière fraîche et taux de matière sèche du limbe selon les génotypes*
(10 feuilles par génotype, sur chacune 5 prélèvements de 1,13 cm²)

| | 1 $j^+j^+$ | 2 $j^+j$ | 3 *jj* | *t* calculés | Probabilités |
|---|---|---|---|---|---|
| Matière fraîche mg/cm² | 26,70 | 27,94 | 25,38 | 1 - 2 = 1,44 | 0,17 |
| | | | | 1 - 3 = 1,70 | 0,09 |
| | | | | 2 - 3 = 3,03 | > 0,01 |
| Taux de matière sèche | 19,60 | 19,60 | 14,00 | 1 - 2 = 0,00 | < 0,99 |
| | | | | 1 - 3 = 8,57 | > 0,01 |
| | | | | 2 - 3 = 7,20 | > 0,01 |

Le poids de matière fraîche par unité de surface, tout comme le taux de matière sèche est plus faible pour « *jj* »; tandis que « $j^+j^+$ » et « $j^+j$ » ne diffèrent pas significativement (tabl. 3). L'activité photosynthétique des plantes jaunes serait plus faible et par voie de conséquence leur croissance plus lente.

2. — *Analyse de la couleur des pigments*

S'il est impossible de distinguer les feuilles « $j^+j^+$ » des feuilles « $j^+j$ », leurs extraits clarifiés dont le niveau de saturation est inférieur à 55 p. 100 peuvent par contre être différenciés à l'œil. Les couleurs des divers extraits obtenus étaient franches, du vert foncé au jaune citron clair.

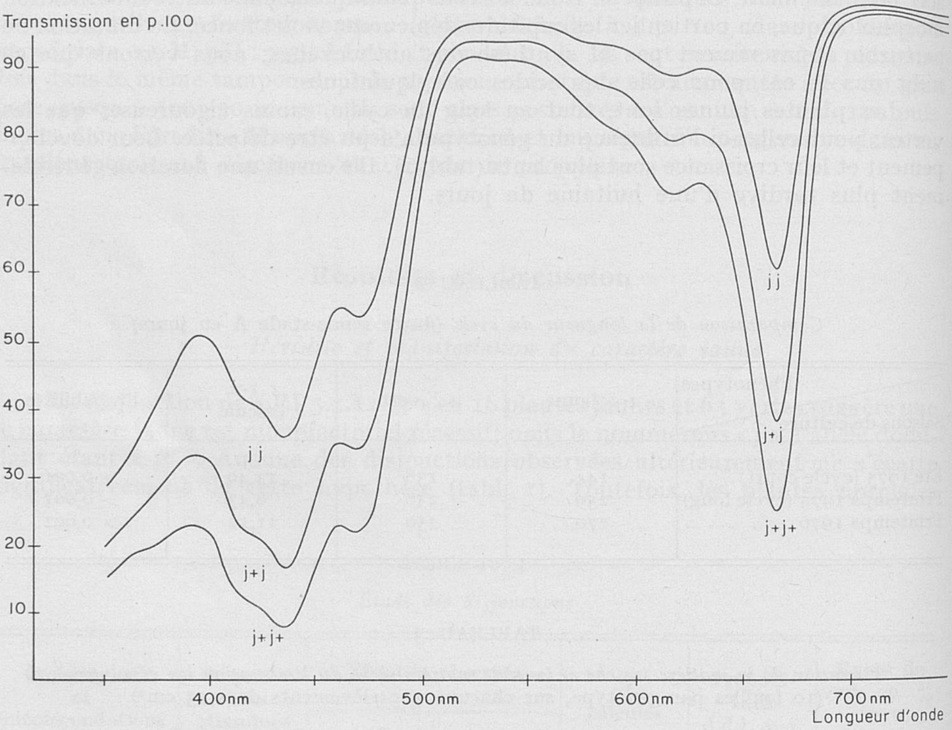



FIG. 1. — *Courbes de transmission des extraits éthanoliques primaires.*

Les taux de transmission décroissent de « $j^+j^+$ » à « *jj* » mais les tracés des courbes sont sensiblement identiques (fig. 1). L'analyse tristimulaire montre une similitude de teinte des extraits primaires, exprimée par : une longueur d'onde dominante identique, un affaiblissement du taux de saturation traduisant aussi la pureté de couleur verte, et une augmentation de la luminance c'est-à-dire une diminution globale de la quantité des substances chromophores (tabl. 4). Ainsi les pigments dominants des 3 génotypes sont vraisemblablement identiques mais ils sont dilués par l'apparition d'un puis de deux gènes « *j* »; l'hétérozygote est intermédiaire quoique plus proche de l'homozygote dominant.

TABLEAU 4

*Expression de la couleur de l'extrait alcoolique primaire ; analyse chromatique tristimulaire des courbes de transmission* (expérience de juin 1976)

| Expressions chromatiques / Génotypes | $j^+j^+$ | $j^+j$ | $jj$ |
|---|---|---|---|
| Teinte ou longueur d'onde dominante en nm. | 564,5 | 565,0 | 565,5 |
| *Chromaticité :* | | | |
| Pureté ou saturation en p. 100. . . . . . | 55,0 | 45,0 | 29,5 |
| Luminance ou clarté en p. 100 . . . . . . . | 81,95 | 86,75 | 93,05 |

Une analyse plus fine de la composition des pigments participant à la couleur extraite paraît donc intéressante.

Le spectre d'absorption obtenu après diffusion des limbes dans l'éthanol 96 G.L. est caractéristique des chlorophylles avec ses deux pics très en relief à 450 et 660 nm (fig. 2*a*); de même celui résultant de la deuxième extraction est voisin (fig. 2*b*) mais le second pic est légèrement décalé vers 675 nm, par effet de solvant ou par une répartition réellement différente des pigments. Dans chacun des deux cas, les spectres des extraits des feuilles des 3 génotypes sont semblables, mais la densité optique, c'est-à-dire l'absorption, décroît de « $j^+j^+$ » à « $j^+j$ » et à « $jj$ ». La coloration est due essentiellement aux dérivés des chlorophylles et xanthophylles extractibles à l'alcool; leur dilution croît de « $j^+j^+$ » vers « $jj$ » (fig. 2*c*).

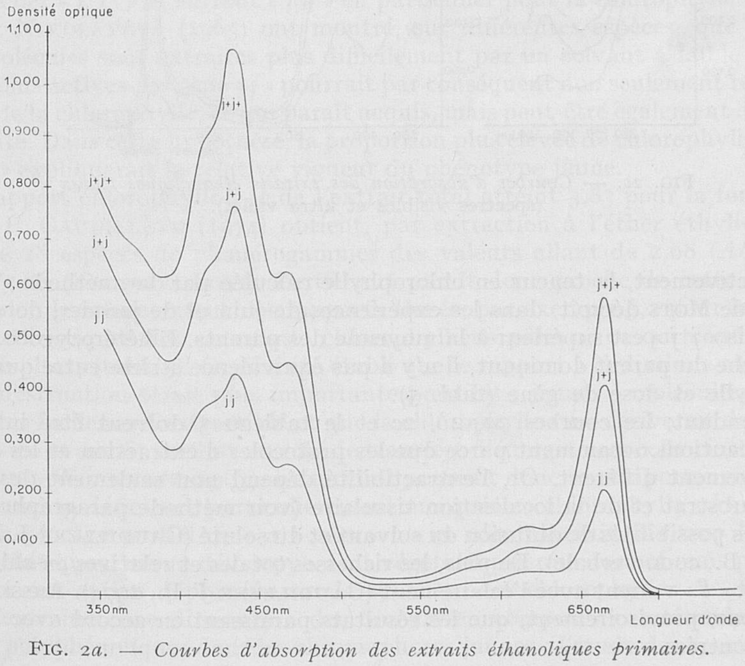



FIG. 2*a*. — *Courbes d'absorption des extraits éthanoliques primaires.*

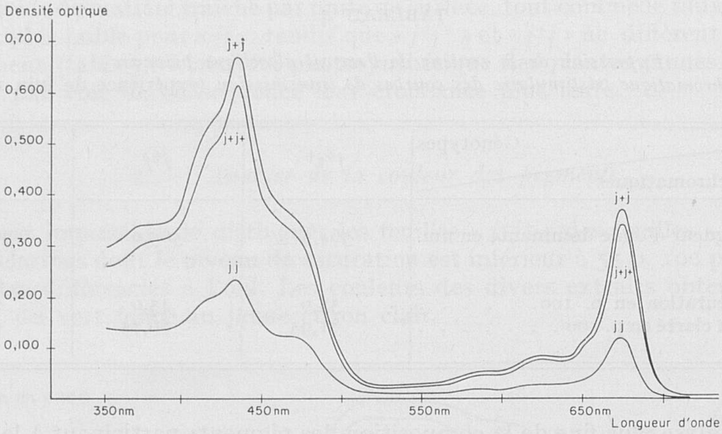



FIG. 2*b*. — *Courbes d'absorption des extraits complémentaires dans éthanol + acétone + chloroforme.*

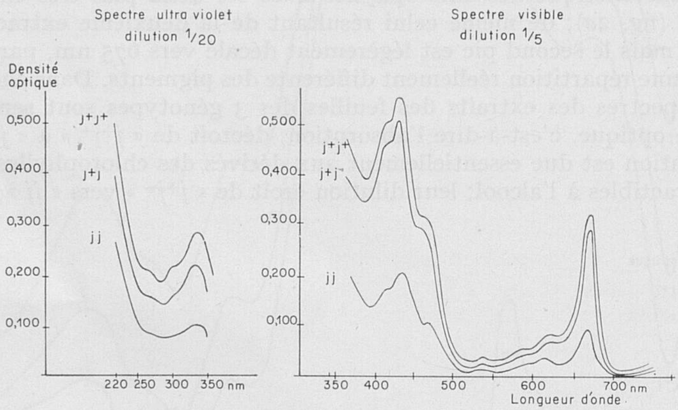



FIG. 2*c*. — *Courbes d'absorption des extraits éthanoliques totaux* (spectres visibles et ultra violet).

Effectivement, la teneur en chlorophylle calculée par la méthode WINTERMANS et de MOTS décroît, dans les expériences de juin et de janvier, de « $j^+j^+$ » à « *jj* », mais « $j^+j$ » est supérieur à la moyenne des parents. L'hétérozygote est donc plus proche du parent dominant, il n'y a pas équivalence stricte entre quantité de chlorophylle et dose de gène (tabl. 5).

Cependant, les courbes 2*a*, 2*b*, 2*c* et le tableau 5 doivent être interprétés avec précaution, notamment parce que les protocoles d'extraction et les époques de prélèvement diffèrent. Or, l'extractibilité dépend non seulement des liaisons avec le substrat et de la localisation tissulaire (voir méthode paragraphe 1) mais encore des possibilités de diffusion du solvant et du soluté (GAUDILLÈRE J. P., 1974; MONTIES B., com. verbale). De plus, les richesses totales et relatives en chlorophylles « *a* » et « *b* » varient avec l'éclairement (GAUDILLÈRE J. P., 1974). Aussi n'accepterons-nous, provisoirement, que les résultats paraissant en accord avec les théories démontrées.

TABLEAU 5

*Teneurs en chlorophylles, rapport a/b des 3 génotypes en deux conditions d'extraction*

| Chlorophylles / Génotypes | $j^+j^+$ | $j^+j$ | $jj$ |
|---|---|---|---|
| Extraction éthanolique primaire (juin 1976) : | | | |
| Teneurs en chlorophylles en mg/100 cm² | | | |
| « a » | 1,4994 | 1,1321 | 0,6240 |
| « b » | 0,6326 | 0,5009 | 0,1920 |
| Totale | 2,132 | 1,633 | 0,816 |
| Rapport *a/b* | 2,37 | 2,26 | 3,25 |
| Extraction totale éthanolique (janvier 1977): | | | |
| Teneurs en chlorophylles totales en mg p. 100 g matière fraîche | 44,50 | 38,90 | 14,05 |
| (Conversion en mg/100 cm²) : | | | |
| « a » | 0,9420 | 0,2121 | 0,2859 |
| « b » | 0,2460 | 0,8738 | 0,0700 |
| Totale | 1,188 | 1,086 | 0,356 |
| Rapport *a/b* | 3,83 | 4,12 | 4,08 |

Le broyage et le solutant acétone, chloroforme alcool permettent d'extraire une fraction des chlorophylles n'ayant pas diffusé en alcool 96 °GL, ainsi que d'autres composés colorés tels que caroténoïdes, flavonoïdes et polyphénols plus ou moins dégradés. Cette deuxième fraction paraît relativement plus faible chez « *jj* » que chez « $j^+j^+$ » et surtout « $j^+j$ » en particulier pour la chlorophylle « *b* ». Or SHLYK et NIKOLAYEVA (1965) ont montré, sur différentes espèces, que les plus vieilles molécules sont extraites plus difficilement par un solvant à faible polarité et sont moins actives. Le gène « *j* » pourrait par conséquent non seulement réduire la synthèse de la chlorophylle, ce qui paraît acquis, mais peut-être également diminuer sa longévité. Dans cette hypothèse, la proportion plus élevée de chlorophylle « jeune et active » expliquerait la relative vigueur du phénotype jaune.

Le rapport chlorophylle *a/b* de l'extrait total atteint 3,83 pour la forme normale; J. P. GAUDILLÈRE (1974) obtient, par extraction à l'éther éthylique, des feuilles de 28 espèces de phanérogammes des valeurs allant de 2,68 (*Abies alba* MILL.) à 3,86 (*Zea mays* LOVI), l'artichaut paraît donc proche de cette dernière espèce. Selon le même auteur, les rapports élevés, par exemple 5,2 pour le Coleus, sont caractéristiques des « mutants chlorophylliens pâles »; ce qui confirme nos propres résultats (tabl. 5). Or, il a été établi que le rapport *a/b* diminue avec l'âge, la photo-destruction serait plus importante pour les « jeunes » molécules, c'est-à-dire les plus facilement extractible et que la chlorophylle « *b* » dériverait de la chlorophylle « *a* » et aurait surtout un rôle de transfert d'énergie vers celle-ci (SIRONVAL C. et MICHEL-WOLWERTZ, 1963). Le mutant pourrait donc se comporter comme un organe jeune; sa déficience particulièrement marquée en chlorophylle « *b* » proviendrait d'un blocage partiel de « *a* » vers « *b* » et n'entraverait pas trop l'activité photosynthétique d'où un développement végétatif presque normal mais plus lent.

Outre son action dépressive sur la synthèse des chlorophylles, le gène « *j* » pourrait entraîner une diminution des teneurs en composés caroténoïdes, flavonoïdes et polyphénoliques dans les chromophores jaunes : l'étude des spectres dans

le visible et dans l'ultra-violet notamment au pic 320 et au minimum 250 nm (fig. 2*c*) paraît indiquer une variation des teneurs en polyphénols et confirme l'intérêt des recherches sur la teneur en ces substances, cynarine en particulier.

### 3. — *Teneur en cinarine des feuilles*

Pour chacun des 3 étages foliaires analysés, la teneur décroît de « $j^+j^+$ » à « *jj* » à peu près dans les mêmes proportions : « $j^+j$ » représente environ 70 p. 100 et « *jj* » 45 p. 100 de « $j^+j^+$ »; « $j^+j$ » est peu différent de la moyenne des deux homozygotes. Toutefois, si la teneur maximale est atteinte au troisième étage pour « $j^+j^+$ » et « $j^+j$ », respectivement 371 et 248 mg pour 100 g de matière fraîche, elle se situe au sixième étage pour « *jj* » (202 mg). On perçoit nettement le redressement de la

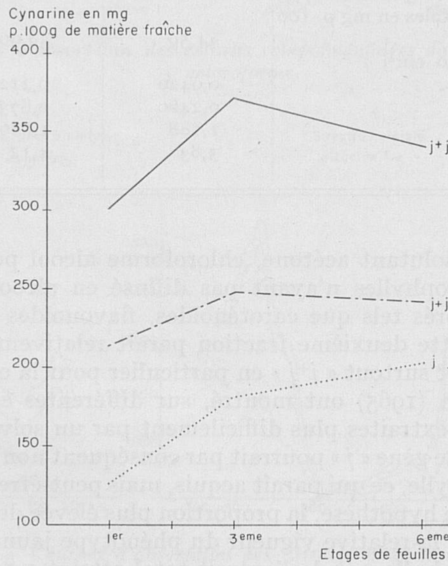



FIG. 3. — *Variation de la teneur en cynarine, exprimée en acide monocafeylquinique étalon, avec les étages de feuilles et les génotypes.*

courbe de teneur en cynarine en fonction de l'étage, à travers les 3 génotypes (fig. 3). Ce phénomène nous paraît à rapprocher du comportement photosynthétique dit « jeune » évoqué plus haut pour « *jj* ».

L'action dépressive du gène « *j* » sur les substances oxydables de type cynarine, soupçonnée au paragraphe précédent, paraît confirmée ici. Cependant, on ne peut dire si ce rôle est direct. En effet, si la présence de polyphénols dans les chloroplastes est maintenant bien confirmée (SAUNDERS et MACCLURE, 1976; PLESSER et WEISSENBOCH, 1977) et si on leur soupçonne un rôle dans l'activité synthétique *in vitro*, soit comme écran, soit grâce à leurs propriétés réductrices (MONTIES B., 1975), on ne sait pas encore s'ils participent *in vitro* à la photosynthèse. Notre matériel par sa teneur en polyphénols ordinairement élevée et sa forme pauvre en chlorophylle mais tout à fait viable paraît adéquat à la recherche des relations polyphénols /photosynthèse.

### 4. — *Étude des chloroplastes*

Les différences, mises en évidence au paragraphe 2, entre les génotypes pour la quantité de pigments, leur nature (rapport chlorophylle *a*/*b*) et la facilité de leur extraction, suggèrent des variations quantitatives et/ou qualitatives des chloroplastes.

a) *Aspect quantitatif ; microscopie photonique*

Après ultracentrifugation la suspension se répartit en deux couches vertes; l'une de 9 mm d'épaisseur pour « $j^+j^+$ » et seulement 5 mm pour « *jj* » est très pro-

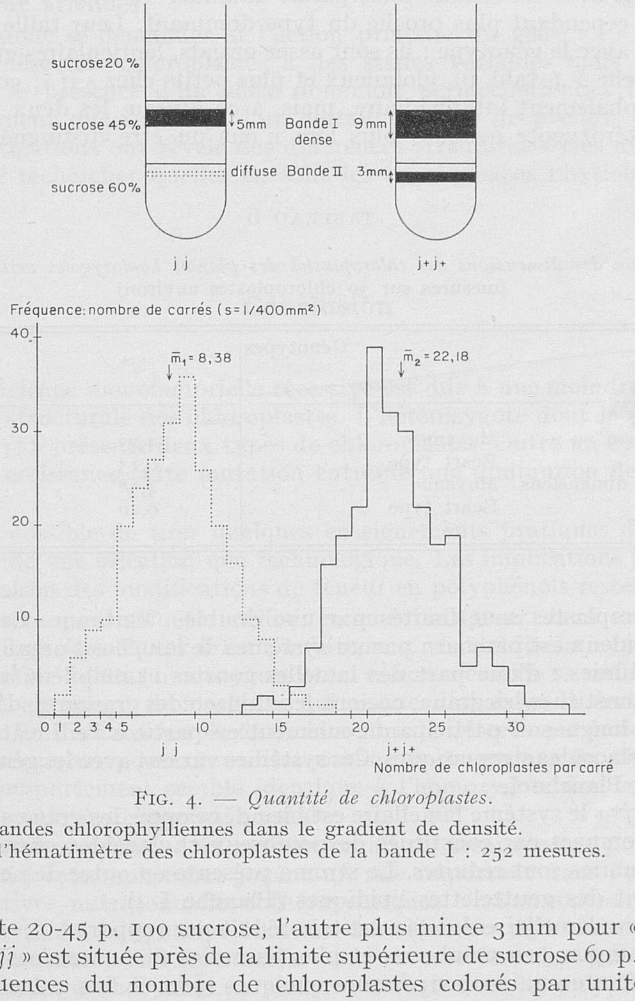



FIG. 4. — *Quantité de chloroplastes.*

*a*) Aspect des bandes chlorophylliennes dans le gradient de densité.
*b*) Comptage à l'hématimètre des chloroplastes de la bande I : 252 mesures.

che de la limite 20-45 p. 100 sucrose, l'autre plus mince 3 mm pour « $j^+j^+$ » et très diffuse pour « *jj* » est située près de la limite supérieure de sucrose 60 p. 100 (fig. 4*a*).

Les fréquences du nombre de chloroplastes colorés par unité de surface de l'hématimètre sont présentées à la figure 4*b* : le test de non normalité n'est

pas significatif et la moyenne de « $j^+j^+$ » = 22,18 est environ deux fois et demie plus grande que celle de « $jj$ » = 8,38. Ce dernier génotype présente en outre d'assez nombreux petits plastes incolores.

Ces observations montrent indéniablement que les plantes jaunes contiennent moins de chloroplastes et qu'au moins certains d'entre eux diffèrent de ceux des plantes vertes.

b) *Aspect structural ; microscopie électronique*

Les mésophylles des 3 génotypes présentent également des cellules parenchymateuses différenciées : système vacuolaire de grande taille, cytoplasme pariétal étroit contenant les différents organites. Les chloroplastes occupent une grande part du cytoplasme et font protusion dans la vacuole centrale. Leur nombre diffère nettement avec les cellules mais paraît diminuer de « $j^+j^+$ » à « $jj$ », l'hétérozygote étant cependant plus proche du type dominant. Leur taille et leur forme varient aussi avec le génotype : ils sont assez grands, lenticulaires et allongés chez « $j^+j^+$ » (Planche I 4, tabl. 6), globuleux et plus petits chez « $jj$ »; ceux de « $j^+j^+$ » paraissent globalement intermédiaire, mais, à ce niveau, les deux types structuraux de l'hétérozygote évoqués plus loin n'ont pu être distingués.

TABLEAU 6

*Comparaison des dimensions des chloroplastes des plantes homozygotes vertes et jaunes*
(mesures sur 30 chloroplastes environ)

| Caractéristiques \ Génotypes | | $j^+j^+$ | $jj$ |
|---|---|---|---|
| Grande dimension en μ | Moyenne | 4,73 | 2,69 |
| | Écart type | 0,13 | 0,08 |
| Rapport des 2 dimensions | Moyenne | 4,58 | 2,30 |
| | Écart type | 0,20 | 0,07 |

Les chloroplastes sont limités par une double membrane. Le stroma assez dense et granuleux est parcouru par un systèmes de lamelles s'organisant en structures bien définies : d'une part des lamelles courtes et empilées les unes sur les autres pour constituer les grana, ce sont les thylacoïdes granaires, d'autre part des lamelles plus longues et participant seulement en partie à l'édification des grana, ce sont les thylacoïdes stromatiques. Ces systèmes varient avec les génotypes comme le montre la Planche I.

Chez « $j^+j^+$ » le système lamellaire est bien développé, les grana sont abondants et d'aspect compact car constitués de nombreux thylacoïdes granaires. Les surface intergranaires sont réduites. Le stroma présente en outre des enclaves osmophiles qui sont des gouttelettes lipidiques (Planche I 4).

Le système lamellaire de « $jj$ » est très réduit par rapport à « $j^+j^+$ ». Les thylacoïdes stromatiques peu nombreux et plus ou moins flexueux s'associent à un ou deux thylacoïdes granaires pour former quelques rares et fins grana (Planche I 1). Dans certains cas, on observe même que des lamelles stromatiques parcourent

tout le plaste sans constituer de grana, il s'agit vraisemblablement des organites incolores observées au microscope photonique. Dans certains chloroplastes une membrane simple limite une enclave dont le contenu osmophile est peut-être de nature lipidique. La membrane paraît plus ou moins prolonger certaines lamelles granaires (Planche I1, lettre *i*). Cette structure n'est pas sans rappeler le granum primaire des proplastes de certaines cellules d'autres végétaux supérieurs.

Le génotype « $j^+j$ » présente deux types de plastes. L'un est proche de « $j^+j^+$ », les lamelles granaires sont suffisamment nombreuses pour former des grana épais, le contenu de ces lamelles est opaques aux électrons (Planche I 3). L'autre est proche de « $jj$ » avec notamment une inclusion intraplastidale osmophile et des lamelles flexueuses mais plus nombreuses et organisées en grana (Planche I 2). Les gouttelettes lipidiques si fréquentes chez « $j^+j^+$ » sont, ici, rares et de tailles réduites tout comme chez « $jj$ ». En résumé, on peut dire que le génotype « $j^+j$ » présente les deux types de chloroplastes parentaux mais les caractères de chacun sont légèrement atténués.

On peut donc se demander si l'action primaire du gène « $j$ » n'est pas de bloquer la genèse des chloroplastes à des stades variables mais généralement peu avancés; la présence d'un allèle dominant permettant chez l'hétérozygote un développement quasi normal d'un certain nombre de plastes. Quoi qu'il en soit, les investigations ont révélé des différences structurales très nettes, il serait intéressant de rechercher quelles en sont les conséquences physiologiques.

## Conclusion

Cette déficience monofactorielle récessive est due à une moindre quantité et à une anomalie structurale des chloroplastes. L'hétérozygote dont le phénotype est proche de « $j^+j^+$ » présente deux types de chloroplastes. Outre un certain ralentissement de la croissance cette mutation entraîne une diminution de la teneur en cynarine.

Il paraît possible de tirer quelques enseignements pratiques de cette étude tant au point de vue sélection que technologique. Les implications pathologiques possibles en raison des modifications de teneur en polyphénols restent à explorer.

Ce caractère pourrait être utilisé comme marqueur dans un programme d'obtention d'hybrides $F_1$ car il est parfaitement visible dès la levée. Malheureusement, il entraîne à l'état homozygote et en raison même de sa nature, une baisse de vigueur et un retard de floraison qui risque d'abaisser la fertilité du clone porte-graines. En limitant le rôle de ce facteur à la détection *a posteriori* du taux d'autofécondations on pourrait utiliser comme porte-graines un clone hétérozygote dont le comportement semble identique à l'homozygote dominant. Le clone pollinisateur serait évidemment normal.

La pauvreté en cynarine du mutant paraît un inconvénient pour la consommation en frais, cette substance jouant un rôle important dans l'expression des qualités gustatives, nutritionnelles et thérapeutiques, c'est au contraire un avantage pour la conservation, la cynarine étant un des substrats de brunissement. Cependant la lignée mutante, dont les bractées sont très colorées, n'est pas utilisable telle quelle; en effet, les anthocyanes paraissent interagir avec les polyphénols, dans la coloration désagréable des cœurs d'Artichaut appertisés. Un programme de

croisements pourrait être envisagé avec des lignées peu anthocyanées issues soit de « Blanc Hyérois » et « Tudela » soit d'un mutant à fleurs blanches dont l'étude est en cours.

*Reçu pour publication en avril 1977.*

## Remerciements

Nous tenons à remercier particulièrement MM. B. MONTIES, I.N.A. Paris-Grignon; H. LOT, I.N.R.A. Montfavet et G. FOUILLOUX, I.N.R.A. Versailles pour leurs précieux encouragements et leurs très nombreuses suggestions permettant l'élaboration de cette note.

## Summary

*Chlorophyll and cinarin contents, and plast structure in a yellowish leaved mutant in globe artichoke* (Cynara scolymus *L.*)

During spring 1974, some yellowish leaved plants arised in one of our inbreed lines ($I_4$) of artichoke cv. « Romanesco ». The yellow character is recessive, it was symbolized by « *j* » while dominant allelomorph was called written « $j^+$ ». The percentage of chlorophyll, especially « *b* », is lower in « *jj* » than in « $j^+j^+$ » the heterozygote is intermediate, but seems as coloured as « $j^+j^+$ ». The percentage of cinarin, estimated in mono cafeil-quinic acid, decreases in the same way. Generally the growth-rate of yellow stalks is lower than green, and of course, bolting and flowering are later. In « *jj* », chloroplasts are relatively scarce and their internal structure is, more or less, like that of normal young plasts. In heterozygotes there are two types of chloroplasts, one as « *jj* », the other as « $j^+j^+$ » i.e. large and garnished, with many grana. The use of « *j* » as marker is, perhaps, not so easy, because of weakness and lateness, but this mutant seems to be promising for the improvement of marketing qualities and suitability for processing.

## Références bibliographiques

ARNOW L. E., 1937. Colorimetric determination of components of 3.4 dihydroxyltyrosine mixture. *J. Biol. Chem.*, **118**, 531-537.

AUBERT S., NOVOA D., 1971. L'Aubergine (*Solanum melongena* L.). I. — Composition et facteurs de qualité. *Ann. Technol. agric.*, **20** (3), 241-264.

FOURY C., 1967. Étude de la biologie florale de l'Artichaut (*Cynara scolymus* L.). Application à la sélection. Première partie : données sur la biologie florale. *Ann. Amélior. Plantes*, **17**, (4), 357-373.

MARGNA V., 1977. Control at the level of substrate supply — an alternative in the regulation of phenyl propanoid accumulation in plant cells. *Phytochmistry*, **15**, 419-426.

MARZI V., LATTANZIO V., VANADIA S., 1975. *Il carcofio pianta medicinale.* Edit. Liantonia, Palo del Colle, 53 p.

MONTIES B., 1975. *Étude de quelques relations entre polyphenols et photosynthèse : présence, compartimentation et métabolisme des polyphénols dans les chloroplastes.* Thèse d'État. Orsay n° 1410.

NICHIFORESCU E., COUCOU V., 1965. Sur le dosage des orthodihydroxyphenols du type acide caféique présents dans les feuilles d'Artichaut. *Ann. Pharm. franç.*, **23** (6), 419-427.

PLESSER A., WEISSENBÖCK G., 1977. Untersuchungen zur Lokalisation von Flavonoïden in Plastiden. IV Flavonoidgehalt intaker Chloroplasten aus *Avena sativa* L. *Z. Pflanzenphysiol.*, **81**, 425-437.

PREZIOSI P., 1967. Valutazione farmacologica dei principi attivi del carciofo. *Atti del* 1° *Cong. Int. sul Carciofo.*, Bari, 23-24 Nov. 1967. Edit. Minerva Medica, 237-281.

SAUNDERS J. A., MCCLURE J. W., 1976. The distribution of flavonoids in chloroplasts of twenty five species of vascular plants. *Phytochemistry*, **15**, 809-810.

SHLYK A., NIKOLAYEVA G. N., 1963. The demonstration of the metabolic appearance of the heterogeneity of chlorophylls *in vivo*. *Colloq. Int. C.N.R.S.* « *La photosynthèse* », n° 119, 301-316.

SIRONVAL C., MICHEL-WOLWERTZ M. R., 1963. Quelques particularités du métabolisme des chlorophylles. *Colloq. Int. C.N.R.S.* « *La Photosynthèse* », n° 119, 317-342.

SPENCER D., WILDMAN S. G., 1964. The incorporation of amino acids into protein by cell-free extracts from tobacco leaves. *Biochemistry*, **3**, 954-959.

WINTERMANS J. F. G. M., DE MOTS A., 1965. Spectrophotometric characteristics of chlorophylls *a* and *b* and their pheophytins in ethanol. *Biochim., Biophys. Acta*, **109**, 448-453.

---

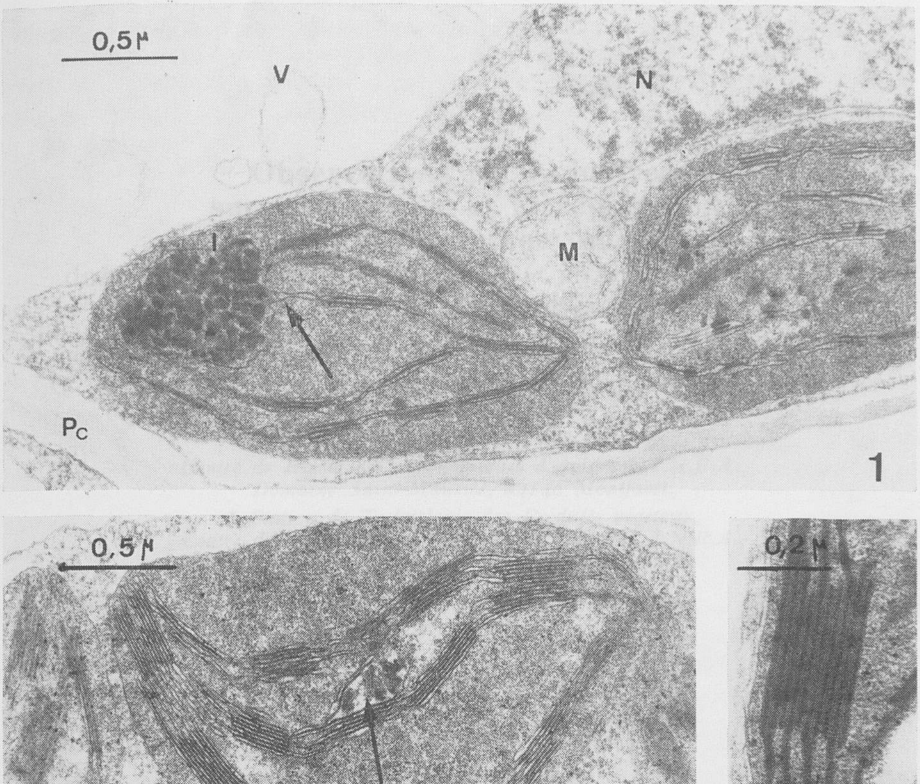
PLANCHE I

*Planche I 1.* — Plaste d'Artichaut à feuilles jaunes (*jj*). Remarquer le petit thyladoïdes, l'absence quasi totale de grana et la présence d'une inclusion intraplastidale (i) limitée par une membrane simple. M : mitochondrie; N : noyau; Pc : parois cellulaire; V : vacuole. G × 32000.

*Planche I 2.* — Chloroplaste de la feuille verte ($j^+j$). Les thylacoïdes sont plus nombreux. Ils s'organisent en grana. On remarque ici encore une petite inclusion intraplastidale (1 flèche) a : inuline. G × 32000.

*Planche I 3.* — Chloroplaste de feuille verte ($j^+j$). Granum dont les thylacoïdes présentent un contenu opaque aux électrons. G × 17500.

*Planche I 4.* — Chloroplaste de feuille verte ($j^+j^+$). Chloroplaste à nombreux grana typiques. Les surfaces intergranaires sont réduites. Présence de globules lipidiques (GL). V : vacuole. G × 30000.




C. Foury, B. Cadilhac, S. Aubert

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (5), 603-612.

# Observations préliminaires sur la présence et la répartition de pigments anthocyaniques dans un mutant d'artichaut (*Cynara scolymus* L.) à fleurs blanches

C. FOURY [1] et S. AUBERT*

*Station d'Amélioration des plantes maraîchères,*
*Centre de Recherches agronomiques d'Avignon, I.N.R.A.,*
*Domaine Saint-Maurice, 84140 Montfavet.*
* *Station de Technologie des Produits végétaux,*
*Centre de Recherches agronomiques d'Avignon, I.N.R.A.,*
*Domaine Saint-Paul, 84140 Montfavet.*

## Résumé

La descendance autofécondée de la variété audoise d'Artichaut « Camard » donne environ un quart des individus à fleurs blanches. Les croisements et autofécondations ultérieures montrent que ce caractère est monofactoriel récessif. L'analyse spectroscopique permet de penser que le même pigment colore les fleurs et les bractées d'involucre. Le déterminisme génétique de la coloration de ces dernières pièces paraît plus compliqué que celui établit antérieurement : 3 gènes au moins seraient en cause.

Une liaison partielle, à confirmer par des analyses précises, entre fleur blanche et faible pigmentation des bractées internes, serait à exploiter pour améliorer l'aptitude à la conserverie.

## Introduction

En 1969, nous avons recueilli à Lasserre-de-Prouille (Aude) une variété d'Artichaut nommé localement « Camard » ou « Capitoul ». Nous avons autofécondé quelques inflorescences en 1970 et observé l'année suivante 165 individus $I_1$. Les fleurs de 43 plantes étaient entièrement blanches. Aucun des 16 autres cultivars étudiés à Montfavet ne montre ce caractère. Par contre la variabilité est, pour l'ensemble des caractères tout aussi importante.

(1) Adresse actuelle : Chaire de cultures légumière et grainière, E.N.S.H., 78000 Versailles.

Le cultivar, sans doute très ancien, aurait disparu ces dernières années sans l'obstination d'une équipe d'agriculteurs curieux et dynamiques. Il est vigoureux, rustique mais assez tardif. Les feuilles très frisées et tomenteuses forment une rosette volumineuse. Le capitule assez globuleux; les bractées trapézoïdales sont largement mais peu profondément échancrées au sommet et munies d'un fort mucron (fig. 1). Au moment de la récolte, elles sont vert-glauque légèrement lavées de violet-rosé pâle; les bractées internes sont fortement anthocyanées. Les fleurs sont bleues, comme celles des autres cultivars.

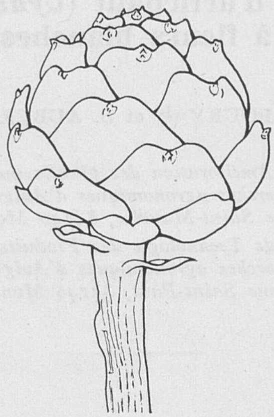


FIG. 1. — « *Capitoul* » (Lauragais).

Le caractère « fleur blanche » pourrait, dans un programme de création d'hybrides $F_1$, servir au contrôle *a posteriori* du taux d'autofécondation, mais il se manifeste juste à la fin du cycle. De plus nous avons trouvé ultérieurement le gène « *j* » : feuille jaune, qui serait préférable, en raison de son apparition précoce, s'il ne présentait pas d'autres inconvénients (FOURY, CADILHAC, AUBERT, 1977).

Mais en raison de l'importance assez considérable de tout facteur de pigmentation sur les capitules destinés à la conserverie, il est intéressant de recueillir le plus d'informations possible sur l'hérédité du caractère anthocyané, sur sa nature et sa localisation, en relation avec la teneur en substrats polyphénoliques dont la cynarine. Cet article n'a d'autre prétention que d'apporter les premières indications à ce sujet et d'en discuter l'éventuelle portée pratique.

## Matériel et méthodes

### 1. — *Obtention et observation du matériel végétal*

Les semences sont produites selon les méthodes habituelles d'autofécondation et de croisement (FOURY, 1967). La coloration des fleurs est notée pour chaque plante, les disjonctions établies et testées. De plus, en 1976, nous avons noté sur

une série de croisements et d'autofécondations la coloration des bractées externes et internes selon l'échelle suivante :

| 0 | 1 | 2 |
|---|---|---|
| pas de violet visible (vert) | trace de violet (ou rouge pour les bractées internes) | très coloré, au moins comme le « Violet de Provence » |

2. — *Analyse spectroscopique d'extraits éthanoliques*

a) *Comparaison des bractées internes et externes d'un croisement et des parents*

Un capitule est récolté sur chaque plante. Sur chacune des cinq spires apparentes (parastiques de Plantefol), la troisième bractée en partant de la base est arrachée. Après mélange, 25 g sont prélevés et mis à macérer dans le solvant. Par ailleurs, les extrémités de toutes les bractées scarieuses sont coupées puis mélangées ensemble; 20 g sont extraits comme précédemment. A cause de la différence de poids et du fait que seules les extrémités des bractées scarieuses sont colorées, les deux fractions ne sont que qualitativement comparables.

L'extraction est réalisée, dans les deux cas, à l'aide de 500 ml d'éthanol 96 GL contenant 2 p. 100 (en volume) d'acide chlorhydrique pur, et par 3 diffusions successives de 2 h. Le milieu acide exalte les pigments anthocyaniques pourpres et limite les phénomènes d'oxydation des polyphénols; mais les chlorophylles sont transformées en phéophytines avec des chromophores jaunes plus sensibles visuellement.

Les spectres d'absorption des extraits alcooliques sont analysés dans tout le domaine du visible, à partir d'indices de densité optique plus ou moins spécifiques des différents pigments c'est-à-dire autour de 520-550 nm pour les anthocyanes et 660 nm pour les dérivés de la chlorophylle.

b) *Comparaison des bractées et fleurs d'un même capitule*

Des quantités différentes mais déterminées de fleurs et de bractées sont prélevées sur un même capitule. En réalité, les stigmates et les pétales, seules parties colorées de la fleur, ont été utilisés. Là encore les comparaisons ne peuvent être que qualitatives. Le mode d'extraction est le même que ci-dessus.

## Résultats et discussion

1. — *Hérédité du caractère « fleur blanche »*

La disjonction observée en $I_1$ ne contredit pas l'hypothèse de répartition 3 bleues pour 1 blanche; l'absence de couleur de la fleur paraît monofactorielle récessive. L'autofécondation des $I_1$ et $I_2$ confirme cette constatation et permet l'isolement de lignées homozygotes « $b^+b^+$ » bleues et « *bb* » blanches.

Les croisements entre ces lignées n'infirment pas les résultats précédents.

Cependant, les 3 derniers croisements du Tableau 1*b* laissent apparaître un excès du phénotype du parent femelle, deux de ces déviations seulement sont significatives. La technique de croisement utilisée (FOURY, 1967) présente des risques non négligeables d'autofécondation. Cependant les nombreux croisements effectués au cours du programme de sélection révèlent très peu ou pas d'autofécondations. Mais le pollen du mutant est très glutineux et peu visible sur les stigmates blancs, son balayage, qui a rôle de castration, peut donc être mauvais d'où les autofécondations supposées.

Enfin, un croisement $bb \times b^+b$ a donné un excès, à la limite de la signification, de bleues; il serait intéressant de rechercher, ce qu'aucune des combinaisons présentées ne peut montrer, s'il n'y a pas là manifestation d'une moindre viabilité liée à l'allèle « *b* ».

TABLEAU I

a) *Autofécondations et détermination des différents génotypes.*

| Autofécondation de | Disjonction de la descendance (bleue — blanc) Observée | Théorique proposée | $\chi^2_c$ | Probabilités | Génotype du parent |
|---|---|---|---|---|---|
| «Camard» = DA (cultivar P $\to I_1$) . . . . . . . . | 122:43 | 3:1 | 0,050 | 0,93 | $b^+b$ |
| DA Bleu (6 $I_1 \to I_2$) . . | 89:0 | 1:0 | | | $b^+b^+$ |
| DA Blanc (5 $I_1 \to I_2$). . . | 0:92 | 0:1 | | | $bb$ |
| DA8 Bleu ($I_1 \to I_2$) . . . | 20:5 | 3:1 | 0,120 | 0,80 | $b^+b$ |
| DA8.11 Bleu (2 $I_2 \to I_3$) . | 32:8 | 3:1 | 0,300 | 0,64 | $b^+b$ |
| DA8.9 Bleu . . . . . | 35:0 | 1:0 | | | $b^+b^+$ |
| DA8.11 Blanc . . . . . | 0:75 | 0:1 | | | $bb$ |

b) *Croisements, vérification des génotypes et taux d'autofécondation.*

| Croisements | Disjonctions bleue : blanc Observées | Attendues | $\chi^2_c$ | Probabilités |
|---|---|---|---|---|
| $b^+b^+ \times bb$ (2 croisements) | 120:0 | 1:0 | | |
| $b^+b^+ \times b^+b$ (2 croisements) | 145:0 | 1:0 | | |
| $bb \times b^+b^+$ (3 croisements) | 110:0 | 1:0 | | |
| (1 croisement) . | 12:3 | 1:0 | 6,66 | $\simeq$ 0,01 |
| $b^+b \times bb$ (2 croisements) | 39:27 | 1:1 | 1,83 | 0,18 |
| $bb \times b^+b$ (1 croisement) | 1:44 | 1:1 | 39,2 | $<$ 0,01 |

$\chi^2 c$ = chi deux corrigé de Yates.

## 2. — *Nature du pigment*

Les spectres d'absorption montrent pour les fleurs et pour les bractées un maxima voisin de 530 nm caractéristique des anthocyanes rouge-pourpre en milieu acide, et un autre pic, pour les seules bractées, autour de 660 nm révélant les chlorophylles dégradées en phéophytines (fig. 2). Les fleurs et les bractées pourraient donc contenir les mêmes pigments anthocyaniques. L'addition de chlorure d'aluminium à l'extrait de bractées provoque un net effet bathochrome vers une teinte

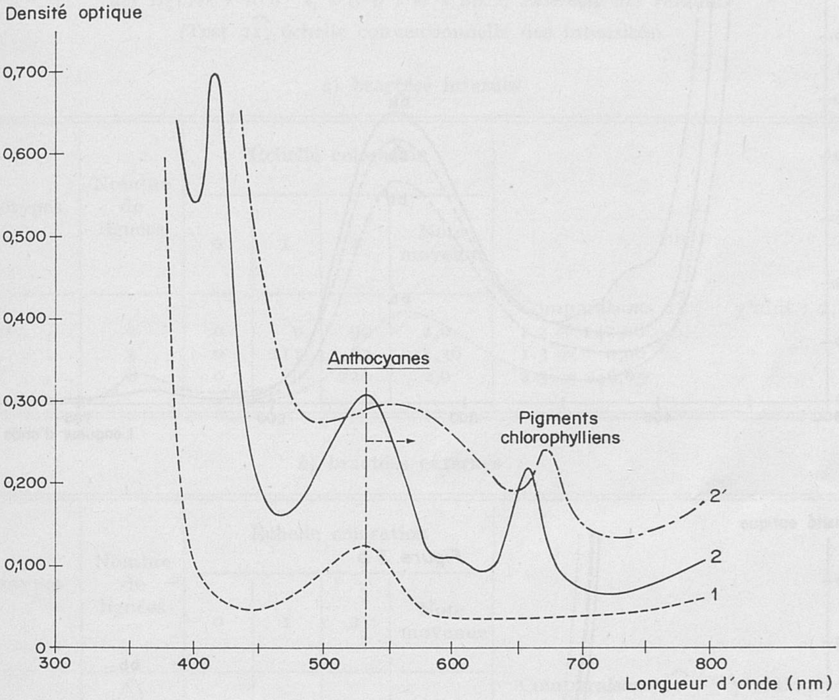



FIG. 2. — *Courbes d'absorptions d'extraits éthanol-chlorhydrique sur fleurs* (1) *et bractées* (2) *de la forme normal bleue* (*l'addition de* $Cl_3Al$ *donne un déplacement bathochrome des courbes en* 2').

bleutée; le maximum 530 nm est repoussé vers 550 nm. Cette position initiale puis son déplacement sont caractéristiques des anthocyanes ortho-hydroxyphénoliques : cyanidol ou delphinidol (fig. 2). Des analyses chromatographiques ultérieures ont montré qu'il s'agit de cyanidol (S. AUBERT, résultats non publiés). Ce type d'aglycone, généralement sous forme d'hétérosides dans la plante, est facilement dégradable en composés quinoniques jaunes, soit par voie enzymatique (polyphénoloxydases), soit par transformation physico-chimique. Ces composés de dégradation peuvent concourir avec les dérivés cafeyl-quiniques tels que la cynarine à la coloration brunâtre et indésirable des capitules appertisés.

### 3. — *Répartition du pigment, comparaison des bractées et des fleurs*

Les quatre courbes d'absorption des extraits alcooliques des bractées internes sont identiques, dans le visible, au niveau de densité optique près; celui-ci décroît de « $b^+b^+$ » vers « *bb* », les deux hétérozygotes étant plus proches de l'homozygote dominant. La teneur en anthocyane de « *bb* » est dans ce cas loin d'être négligeable

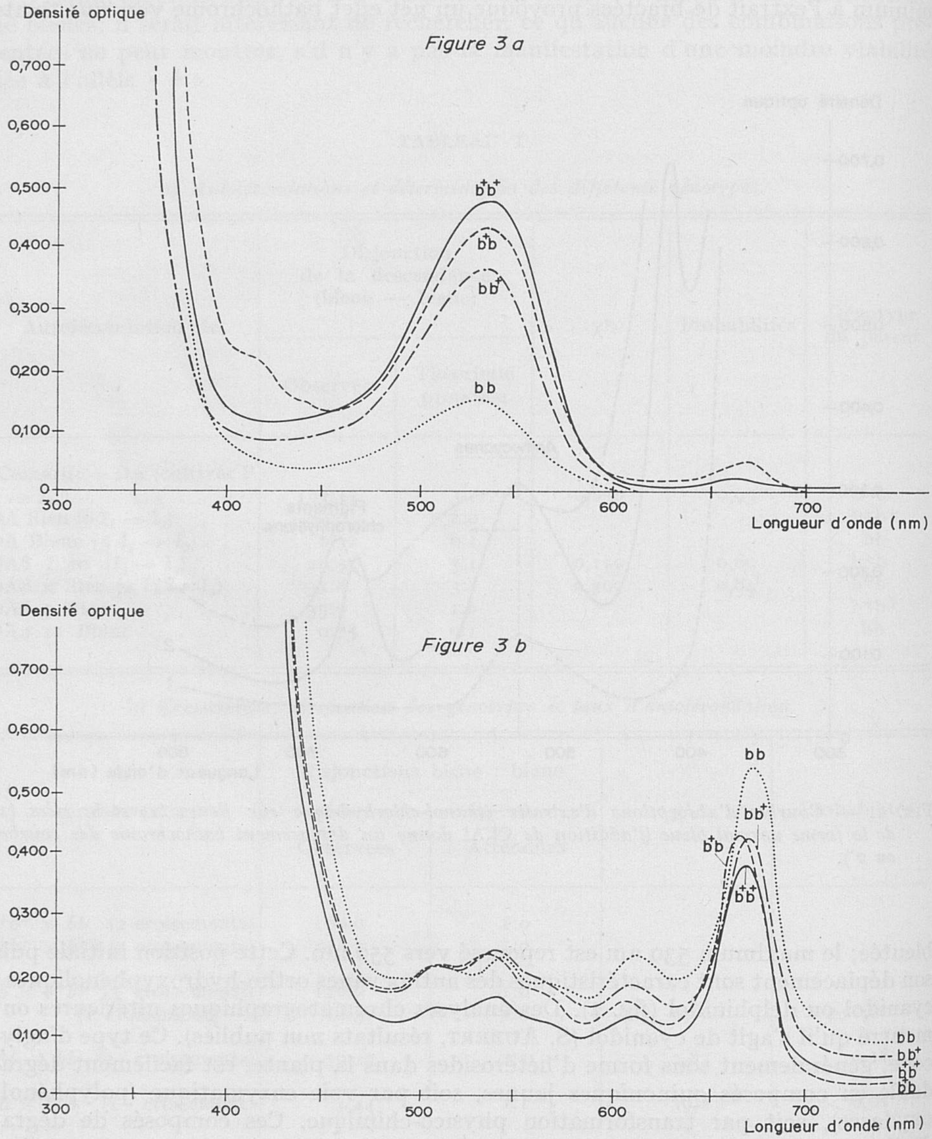



FIG. 3. — a) *Courbes d'absorptions des extraits éthanol-chlorhydrique de bractées internes.*
b) *Courbes d'absorptions des extraits éthanol-chlorhydrique de bractées externes.*

(fig. 3*a*) puisqu'elle atteint le tiers de celle de « $b^+b^+$ ». La notation plante par plante de l'intensité de coloration précise ces résultats au niveau individuel. Les bractées internes sont toujours anthocyanées, mais la faible intensité de coloration, note 1, ne se trouve que chez les individus à fleurs blanches (tabl. 2*a*).

Les quatre courbes d'absorption des extraits alcooliques des bractées externes sont identiques, leurs niveaux sont assez proches (fig. 3*b*). La notation plante à plante révèle que seuls les individus à fleurs blanches présentent des bractées

TABLEAU 2

*Comparaison des fréquences d'intensité de coloration des bractées des lignées « $b^+b^+$ », « $b^+b$ » et « bb »; ensemble des résultats*

(Test $\widehat{21}$; échelle conventionnelle des intensités)

*a*) bractées internes

| Génotypes | Nombre de lignées | Échelle coloration 0 | 1 | 2 | Note moyenne | Comparaisons $\widehat{21}$ | $\chi^2$:ddl : 2;P:0,05 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 $b^+b^+$ . . . | 2 | 0 | 0 | 99 | 2,0 | 1.2 = 142,06 | 5,991 |
| 2 $bb$ . . . . | 3 | 0 | 111 | 62 | 1,36 | 1.3 = 0,00 | |
| 3 $bb^+$ . . . | 6 | 0 | 0 | 226 | 2,0 | 2.3 = 246,05 | |

*b*) bractées externes

| Génotypes | Nombre de lignées | Échelle coloration 0 | 1 | 2 | Note moyenne | Comparaisons $\widehat{21}$ | $\chi^2$:ddl : 2; P:0,05 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 $b^+b^+$ . . . | 2 | 0 | 22 | 77 | 1,78 | 1.2 = 286,14 | 5,991 |
| 2 $bb$ . . . . | 3 | 164 | 9 | 0 | 0,05 | 1.3 = 0,44 | |
| 3 $b^+b$ . . . | 6 | 0 | 58 | 168 | 1,74 | 2.3 = 474,78 | |

N.B. : les valeurs de « $b^+b$ » et « $bb^+$ » sont strictement identiques.

externes sans anthocyane visible et qu'aucun d'entre eux n'en montre de très colorées (tabl. 2*b*). Cette échelle discontinue ne rend probablement pas bien compte de la réalité puisque dans le cas de l'analyse spectroscopique (fig. 3*b*), les teneurs en anthocyane (530 nm) et en chlorophylle (650 n.m) sont plus faibles pour le génotype « $b^+b^+$ » (fig. 3*b*). De plus, l'œil ne paraît pas toujours apte à repérer les très faibles colorations; leur recherche, éventuelle dans le but d'améliorer la qualité après appertisation devra donc être contrôlée par une étude spectrographique.

Les classements d'une descendance disjoignant en « *bb* » et « $b^+b$ » confirme les précédentes conclusions au niveau de la lignée (tabl. 3*a*, 3*b*). Enfin le tableau 4 montre que la combinaison bractées internes peu colorées — bractées externes vertes est la plus fréquente (60 p. 100 des cas) pour les plantes à fleurs blanches.

TABLEAU 3

*Comparaison des fréquences d'intensité de coloration des génotypes « bb » et « $b^+b$ » issus d'un même croisement « bb » × « $b^+b$ ». Ensemble des résultats*

(test $\widehat{2I}$; échelle conventionnelle des intensités)

*a*) bractées internes

| Génotypes \ Intensités | 0 | 1 | 2 | Note moyenne | |
|---|---|---|---|---|---|
| $b^+b$ | 0 | 0 | 50 | 2,0 | Comparaison $\widehat{2I}$ : 48,09; |
| *bb* | 0 | 15 | 16 | 1,52 | $\chi^2$ ddl : 2; P : 0,05 5,991 |

*b*) bractées externes

| Génotypes \ Intensités | 0 | 1 | 2 | Note moyenne | |
|---|---|---|---|---|---|
| $b^+b$ | 0 | 18 | 32 | 1,64 | Comparaison $\widehat{2I}$ : 57,97; |
| *bb* | 24 | 7 | 0 | 0,22 | $\chi^2$ ddl : 2; P : 0,05 5,991 |

TABLEAU 4

*Liaison de l'intensité de la coloration entre bractées externes et internes pour le génotype « bb » : pourcentages établis sur l'examen de 225 individus*

| Intensités externes \ Intensités internes | 1 | 2 |
|---|---|---|
| 0 | 60 | 31 |
| 1 | 2 | 7 |
| 2 | 0 | 0 |

Au niveau de la fleur, il existe une alternative sans nuance : présence : fleurs bleues/absence : fleurs blanches, ce caractère apparaissant comme monofactoriel récessif. Au niveau des bractées internes scarieuses il y a toujours présence d'anthocyane donnant une coloration rouge. Enfin, au niveau des bractées externes, l'alternative présence : limbe violacé/absence : limbe vert, se retrouve. Cepen-

dant l'apparition de capitules colorés aussi bien dans des descendances de cultivars « Violets » (« Romanesco », « Violet de Provence », « Precoce di Jesi », etc...) que dans celles des cultivars « Verts » (« Camus de Bretagne ») nous a amené à supposer l'existence « d'un facteur producteur d'anthocyane A et d'un gène represseur « R » (FOURY, 1969). A la lumière des faits ci-dessus, cette hypothèse paraît pour le moins incomplète. La coloration constante des bractées internes implique nécessairement l'état uni-allélique et fonctionnel du système producteur d'anthocyane. L'absence, non concomittante, de coloration en d'autres lieux indique une différenciation spaciale et sans doute temporelle de l'expression de la coloration. Plusieurs inhibiteurs seraient, selon les lieux, capables d'interrompre la synthèse anthocyanique à diverses étapes; par exemple ici « *bb* » suffirait à empêcher la coloration bleue des stigmates et de l'extrémité des pétales. Au moins certains d'entre eux seraient épistatiques dominants sur le gène producteur, d'où les disjonctions observées sur les bractées externes.

Cette situation se rapproche de celle décrite par CORNU et PAYNOT (1969) pour *Salvia horminum*, mais l'expression tissulaire différentielle est dans ce cas, la conséquence de modifications de l'aglycone par hydroxylation, méthylation et acylation notamment, alors que chez l'Artichaut elle paraît plutôt liée à l'interruption de la synthèse d'une seule anthocyane à un niveau ou à un autre. Les bractées internes se colorent toujours avant la floraison, donc à l'abri de la lumière. Très faible mais relativement précoce (fleurs de 3 à 4 mm) chez « Tudela », la coloration peut être au contraire plus importante et plus tardive par exemple chez « Blanc Hyérois ». Les bractées externes se colorent à la lumière, mais la coloration peut augmenter par exemple chez « Camus », ou décroître, chez « Violet de Provence » avec le temps.

## Conclusions

A cause de sa manifestation tardive, le caractère non anthocyané des fleurs n'est guère utilisable pour le contrôle *a posteriori* du taux d'autofécondations accidentelles dans des semences $F_1$. En dépit des difficultés de manipulation d'un pollen très glutineux et de même couleur que les stigmates, ce caractère peut aider dans l'étude approfondie de la biologie florale.

La liaison partielle, à confirmer par des analyses, entre fleur blanche et faible pigmentation rouge des bractées internes, devrait par contre présenter un certain intérêt pour l'amélioration des aptitudes à la conserverie. La dégradation des anthocyanes en composés quinoniques jaunes paraît concourir à la coloration brunâtre des cœurs en conserve.

Les interférences entre ce pigment et les acides cafeyl-quinique au cours de ce processus ne peuvent encore être précisées. D'après les recherches de DELLACECCA *et al.* (1975), sur une centaine de cultivars périméditerranéens, les teneurs respectives en ces deux types de substances également de nature orthohydroxyphénolique ne paraissent pas liées. Par contre l'évolution de la richesse en ces substances et la sensibilité au brunissement sont fonction, au moins chez « Violet de Provence », de l'âge du capitule (AUBERT, données non publiées).

*Reçu pour publication en mai 1977.*

## Remerciements

MM. A. Cornu, G. Fouilloux et M. Paynot ont bien voulu relire, corriger cette note et nous faire d'intéressantes suggestions; qu'ils en soient vivement remerciés.

## Summary

*Some observations on anthocyan contents of a white flowered mutant in globe artichoke* (Cynara scolymus *L.*)

In progeny of globe artichoke (*Cynara scolymus* L., cv. « Camard »), cultivated in a few localities near Carcassonne (Aude, France), we have found about 25 p. cent of plants with white flowers.

Later, cross and self pollinations confirmed the recessivity of this characteristic. Some analysis by spectrography have been carried out to compare the nature of pigment in bracts and flowers; it seems to be exactly the same and probably a cyanidol compound. Heredity of coloration of bracts is, nevertheless, more intricate than we have determined some years ago, (see bibliography). Three genes, at least, are probably involved.

White flower and slight coloration of internal bracts appear, more or less, linked. If analysis confirms this view, it will be very interesting to use this linkage to improve fitness for canning. A low percentage of phenolic compounds is suitable for beautiful grey yellowish product; on the contrary a high value give a brown unpleasant food.

## Références bibliographiques

Cornu A., Paynot M., 1969. Hérédité et analyse chromatographique de la pigmentation anthocyanique des fleurs et bractées de « Salvia horminum L. ». *Ann. Amélior. Plantes*, **19**, (1), 5-13.

Dellacecca V., Magnifico V., Marzi V., Porcedu E., Scarascia-Mugnozza G. T., 1974. Contributo alla conoscenza delle varieta di carciofo coltivate nel monde. 2e *Congr. Int. di Studi sul carciofo*, Bari, 199-316.

Foury C., 1967. Étude de la biologie florale de l'Artichaut (*Cynara scolymus* L.). Application à la sélection, 1re partie. Données sur la biologie florale. *Ann. Amélior. Plantes*, **17**, (4), 357-373.

Foury C., 1969. Étude de la biologie florale de l'Artichaut (*Cynara scolymus* L.). Application à la sélection, 2e partie. Étude des descendances obtenues en fécondation contrôlée. *Ann. Amélior. Plantes*, **19**, (1), 23-32.

Foury C., Cadilhac B., Aubert S., 1977. Observations sur les teneurs en chlorophylle et en cynarine, et sur la structure des chloroplastes d'un mutant d'artichaut (*Cynara scolymus* L.) à feuilles jaunes. *Ann. Amélior. Plantes*, **27**, 5, 577-585.

Lattanzio V., Bianco V. V., Cascarno A., Della Gatta C., 1975. Teneur d'orthodiphénols des variétés d'Artichaut en différentes périodes de récolte. *Convegno inter. sui polifenoli*, 21-23 mai 1975, Milano.

# RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 29,7, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles *séparées* seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

*Au début de chaque mémoire*, on indiquera : — *le titre du mémoire;* il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes); — *le nom des auteurs*, précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de...; *le nom de l'établissement*, dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

*Les mémoires* seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :
a) *résumé* (250 mots max.) suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine; c) *techeique expérimentales et matériels utilisés*, en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences; d) *résultats*, à présenter de la manière la plus brève possible; e) *discussion* et *conclusion;* f) *titre et résumé* en anglais ou destiné à être traduit en anglais comportant une analyse *complète* de l'article; g) *remerciements* pour les collaborations, les fonds, les dons...; h) *références bibliographiques*.

*Les travaux originaux en anglais* doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français *très complet*. Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

*Pour les autres documents* (notes, mises au point, revues, rapports, etc.), l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

*Les références bibliographiques* doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (DUPONT et DUVAL, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier sera mentionné, suivi de *et al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

*Pour les articles:* le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivi (s) des initiales du (des) prénom (s); la date de parution de l'article; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues mentionnées) : le titre du périodique en abrégé, selon la *World List of Scientific Periodicals*, ou le *Bulletin Signalétique du C.N.R.S.;* le volume, la première et la dernière page de l'article.

*Pour les ouvrages:* le nom de l'auteur avec les initiales du prénom; la date de l'édition; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine); le volume; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs; le nom de l'éditeur; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d' «Abstracts», le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

*Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part.* Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

*Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils* seront envoyés soit *à l'état définitif* soit *à l'état de projets*, leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I.N.R.A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : *soit* × 0,5, *soit* × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des *Annales* est : 12,5 × 19 cm; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

*Photographies:* Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos : 9 × 12; 4 photos : 9 × 5,5; 6 photos : 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Il est demandé d'indiquer sur le manuscrit, dans la marge, en regard du texte, l'emplacement souhaité des tableaux et figures.

*Envoi du manuscrit:* M. RIVES; Centre de Recherches de Bordeaux, 33140 Pont de la Maye, France. On demande deux exemplaires.

*Correction des épreuves:* les épreuves que les auteurs recevront à corriger sont à retourner, après correction à M[me] MANDON, Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes, C.N.R.A., 78000 Versailles.

*Le Directeur de la publication :* M.-L. Cagnac

F. D. Imprimerie Alençonnaise, rue Édouard-Belin, 61002 Alençon

*Dépôt légal : 1er trimestre 1978. No d'impression : 84.938*

CPPAP no 26633

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE
I. N. R. A.
Centre de Recherches de RENNES
STATION D'AMÉLIORATION DES PLANTES
B.P. 29 - 35650 LE RHEU
Tél. : (99) 00.71.92

# annales de l'amélioration des plantes

Bimestriel

1977

Vol. 27 - N° 6

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs
et de l'Institut national de la Recherche agronomique
à l'exception des résumés

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (6), 613-638.

# La transpiration végétale
# Modes d'action des antitranspirants

Étude bibliographique
arrêtée en août 1976

A. COUDRET et Françoise FERRON*

*Laboratoire de Biologie et Physiologie végétale,*
*Faculté des Sciences du Mans*
*Route de Laval, 72017 Le Mans Cedex*

**Laboratoire de Chimie biologique et de Photophysiologie*
*I.N.A., Centre de Grignon*
*78850 Thiverval-Grignon*

## Résumé

En premier lieu, les auteurs discutent un schéma récapitulatif des principales théories explicatives de l'ouverture-fermeture des stomates. Puis ils passent en revue les différentes substances actuellement connues pour réduire la transpiration stomatique et cuticulaire. Enfin, après avoir montré les perspectives offertes par l'utilisation de telles substances, ils soulignent combien l'application des antitranspirants doit être faite d'une façon rationnelle, sans exclure leur apport certain tant en agriculture et en horticulture que pour la recherche.

### LISTE DES ABRÉVIATIONS

ABA = acide abscissique.
ADP = adénosine diphosphate.
ATP = adénosine triphosphate.
ATPase = adénosine triphosphatase.
Bnine = acide N-diméthylamine succinique.
CCC = chlorure de chlorocholine.
2,4 D = acide 2,4-dichlorophénoxyacétique.
8 HQ = 8 hydroxyquinoline.
IAA = acide 3-indolacétique.
NAA = acide 1-naphtylacétique.
NaDDC = diméthyl-dithio-carbamate de sodium.
NADPH = nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate réduit.
NOXA = acide 2-naphtoxyacétique.
PEPC = phosphoenolpyruvate carboxylase.
Pi = phosphate minéral.
PMA = acétate de phényl mercure.
RUDPC = ribulose 1,5-diphosphate-carboxylase.

L'importance de l'eau dans les processus biochimiques réglant la vie des cellules végétales et animales n'est plus à souligner. Dans le monde végétal, l'intensité moyenne de la circulation de l'eau dans la plante et l'état d'hydratation des tissus sont liés au processus de transpiration. Or pour assurer un bilan hydrique favorable à la plante, il est nécessaire de maintenir à un niveau stable optimal l'intensité du flux hydrique et d'éviter des fluctuations irréversibles de l'état d'hydratation des tissus. L'un des moyens d'intervention sur le bilan hydrique de la plante est alors l'application sur le feuillage de substances à action antitranspirante.

Bien entendu cette action n'est pas à envisager dans des conditions de croissance optimales ce qui exclut d'emblée le cas de plantes naturellement adaptées. L'examen approfondi de la transpiration — en relation avec d'autres processus fondamentaux — permet de comprendre pourquoi on a pu songer depuis longtemps (JUMELLE, 1890) à améliorer le bilan hydrique des plantes par une action contrôlant la transpiration. Le rôle de régulation thermique — dû à la transpiration — est rapporté par de nombreux auteurs (CURTIS, 1940; RASCHKE, 1960; GATES, 1964, 1968; PROKOF'EV, 1974) : la température interne des feuilles varie en raison inverse de l'intensité de la transpiration; or d'après KRAMER (1973), cette action de refroidissement des feuilles dans les transferts de chaleur est moins intense que celle due aux radiations réémises par le feuillage (IDSO et BAKER, 1967). En outre dans une étude sur les effets attendus des antitranspirants, GALE et HAGAN (1966) discutent sur le rôle bénéfique de la transpiration sur l'absorption des ions minéraux; dans les faits, au cours d'expériences réalisées sous serre sur la Luzerne, KUDREV et RADEVA (1975) constatent que les meilleures conditions d'absorption des éléments nutritifs ne se manifestent que si l'intensité de la transpiration ne dépasse pas une valeur correspondant à l'optimum de croissance. Enfin il faut souligner comment transpiration et photosynthèse sont inévitablement associées dans l'utilisation de l'énergie lumineuse reçue par les végétaux supérieurs (COSTES, 1960) : dans la fraction de 50 p. cent de l'énergie solaire incidente effectivement utilisée par une feuille, 1 p. cent seulement sert à la photosynthèse contre 49 p. cent à la transpiration; or, si 60 p. cent de radiations essentielles à ce processus sont prélevées dans l'infra-rouge, 40 p. cent le sont en lumière blanche ce qui mesure la part de l'énergie dégradée en chaleur dans les pigments foliaires au cours de la conversion photochimique.

En définitive, si l'on ajoute que moins de 1 p. cent de l'eau absorbée par les racines est retenue dans la plante, on constate que la transpiration représente une forte consommation énergétique pour le passage de l'eau de l'état liquide à l'état vapeur, et une forte consommation hydrique qui semble gratuite, la plus grande partie de l'eau traversant la plante sans être métabolisée. C'est pourquoi la recherche d'une action limitant le flux de transpiration revêt une importance économique dans les zones à climat aride où l'on a songé à adjoindre un traitement antitranspirant à l'irrigation dans l'espoir de réaliser une économie de l'eau disponible (GALE, 1961). Tout le problème consiste alors à trouver un compromis, au niveau des échanges gazeux foliaires, entre la réduction de l'émission de vapeur d'eau et l'alimentation en gaz carbonique de l'appareil photosynthétique. Ce lien avait déjà été pressenti par CURTEL (1890) qui établissait une relation entre « assimilation chlorophyllienne » et « transpiration chlorophyllienne » ou « chlorovaporisation ».

La transpiration s'effectue par deux voies, l'une cuticulaire, l'autre stomatique; or, si pour un végétal donné la résistance cuticulaire au transfert de vapeur d'eau — résistance qui dépend d'un caractère morphologique — est probablement cons-

tante à l'échelle de la journée, la transpiration stomatique est liée aux mécanismes régulateurs du degré d'ouverture stomatique. C'est pourquoi en premier lieu nous proposerons un schéma global regroupant les diverses théories explicatives de l'ouverture et de la fermeture des stomates; puis dans une seconde partie nous décrirons les diverses possibilités d'action sur la transpiration en essayant de préciser leurs points d'impact dans le schéma précédemment établi. Nous distinguerons trois modes d'action : action par voie endogène de type hormonal (ou inhibiteur métabolique), action par voie externe de type film hydrophobe, action par d'autres procédés (par exemple : augmentation de la réflexion de la lumière par les organes végétaux). Enfin nous conclurons sur les perspectives offertes par l'utilisation des antitranspirants en insistant autant sur leurs effets positifs que négatifs dûs à des actions secondaires qui sont parfois inattendues et qui exigent beaucoup de précautions lors de l'application de tels produits.

## I. — Ouverture et fermeture des stomates à la lumière : mécanismes régulateurs de la transpiration stomatique

### I.1. — *Schéma récapitulatif des principales théories*

Louguet (1974) a fait une étude critique des principales théories qui montrent la complexité du mouvement des stomates. Parmi les nombreuses hypothèses proposées nous en retiendrons trois entre lesquelles des relations apparaissent, et ce, surtout depuis le nouveau concept du transport de protons proposé par Levitt (1974). Partant de la théorie dite « classique » dans laquelle l'accent sera porté sur les variations de pression osmotique dans la cellule stomatique sous l'action directe de la lumière, nous essaierons de montrer les corrélations possibles entre cette théorie, la théorie hormonale (action de l'acide abscissique) et la théorie des échanges d'ions (échanges $H^+$, $K^+$, anions organiques). Au regard de la figure 1, il apparaît que le degré d'ouverture stomatique est en fait la résultante de plusieurs mécanismes dont le fonctionnement complexe n'est pas encore totalement connu. En effet, la compréhension de ces mécanismes tient beaucoup à l'acquisition d'une donnée récente qui conduit à envisager le fonctionnement de la cellule stomatique non pas isolée mais comme une cellule ayant des possibilités d'échanges ioniques avec les cellules épidermiques compagnes : l'existence problématique de plasmodesmes dans ces cellules dites subsidiaires a été décrite par Pallas et Mollenhauer (1972). En fait c'est le tissu épidermique dans son intégralité, avec son revêtement cuticulaire et ses « interruptions stomatiques », qui participe aux échanges de gaz et de substances, et, notamment, à la transpiration. Les possibilités d'échanges rapides entre la cellule stomatique et les cellules avoisinantes peuvent par ailleurs expliquer la rapidité de réponse des stomates aux facteurs ambiants.

Signalons que la fonction essentielle de contrôle sur les échanges gazeux exercée par les stomates a été largement décrite par Raschke en 1975. Or cet auteur interprète le caractère oscillatoire des mouvements d'ouverture-fermeture des stomates comme un moyen d'agir sur le rapport $\frac{\text{Photosynthèse}}{\text{Transpiration}}$ dans la recherche de conditions optimales de croissance des plantes cultivées.

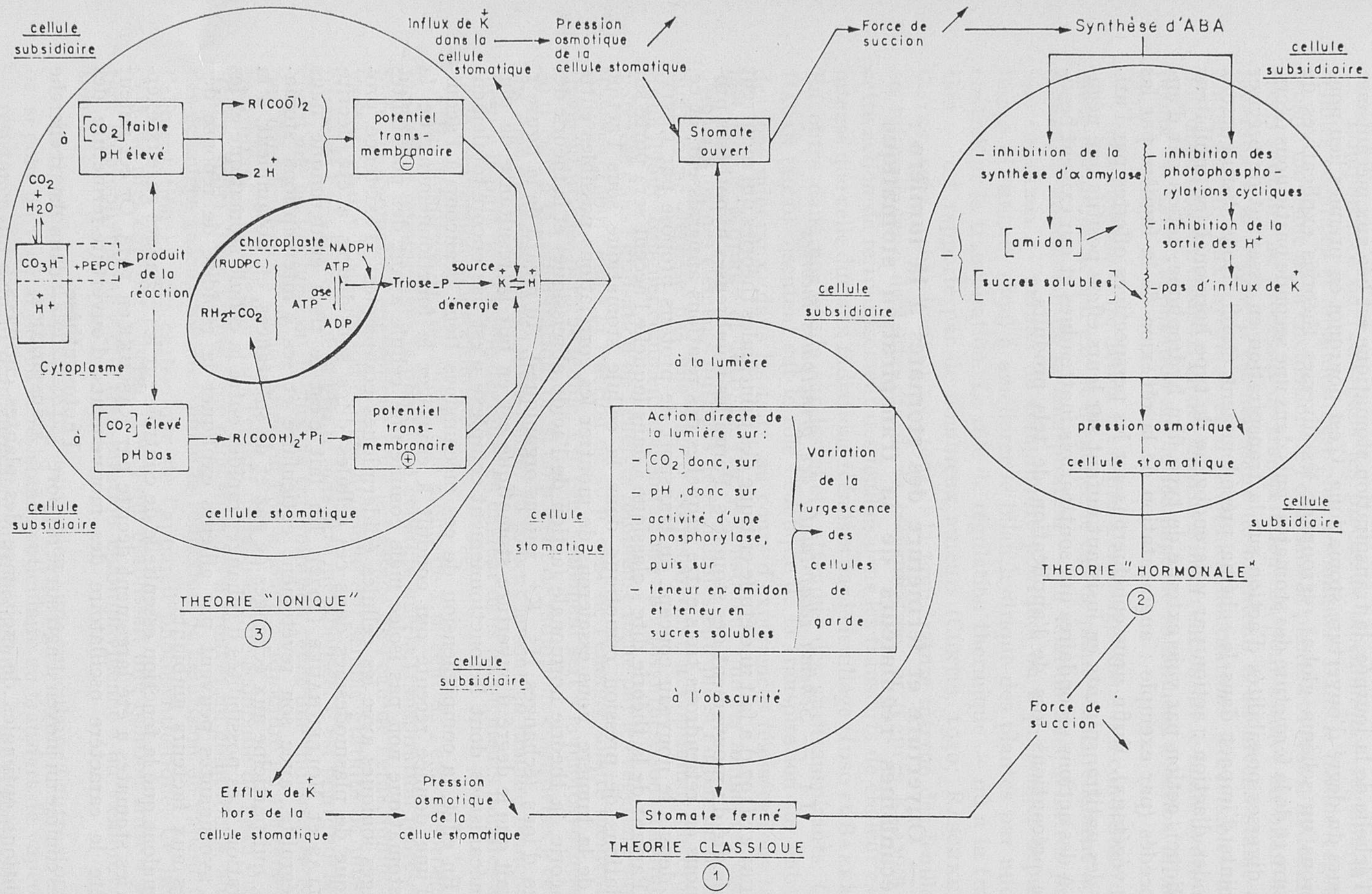



FIG. 1. — *Théories classique et moderne des mouvements stomatiques.*

① Théorie classique : rôle des facteurs externes sur l'ouverture — fermeture des stomates par une action sur la turgescence des cellules de garde.
② Théorie hormonale : rôle de l'acide abscissique sur l'ouverture — fermeture des stomates par une action sur la pression osmotique des cellules de garde.
③ Théorie ionique : rôle des « échanges ioniques » ($K^+ \rightleftharpoons H^+$ avec production d'anions organiques compensateurs) sur l'ouverture-fermeture des stomates par une action sur le potentiel transmembranaire des chloroplastes et du plasmalemme des cellules de garde.

### I.2. — *Discussion du schéma proposé*

De ce schéma de synthèse, il ressort que trois facteurs auraient un rôle primordial dans les mouvements d'ouverture et de fermeture stomatiques : les variations de concentration en $CO_2$, l'ensemble des variations de pH, les variations de potentiel transmembranaire des chloroplastes et du plasmalemme; toutes conduisent à des variations de pression osmotique des cellules de garde sous l'effet de mécanismes décrits dans les trois théories et dont nous allons essayer de développer les points essentiels.

#### I.21. *Théorie « classique »*

Elle fait intervenir le rôle de la lumière sur la diminution de la teneur en $CO_2$ et l'augmentation du pH dans les cellules stomatiques, suivies d'une diminution de la teneur en amidon et d'une augmentation concomitante de la teneur en sucres solubles; il s'ensuit une augmentation de la pression osmotique et de la turgescence des cellules de garde, ce qui entraîne l'ouverture des stomates.

#### I.22. *Théorie « hormonale »*

Une action sur ces mêmes caractéristiques physiques de la cellule peut être provoquée par une hormone, l'acide abscissique, dont l'action sur la transpiration a déjà été rapportée par LITTLE et EIDT (1968). Or, la synthèse de cette substance est induite par un choc hydrique consécutif à une perte d'eau par la plante pouvant résulter d'une transpiration accrue à la faveur de l'ouverture stomatique (HOAD, 1973). Dans les faits, cette induction n'est pas spécifique du « choc hydrique » mais a été signalée sous l'effet d'autres types d'agressions comme la sécheresse ou la salinité du milieu, le gel (VIEIRA DA SILVA, 1977).

Plusieurs auteurs observent un parallélisme entre l'augmentation de la teneur en ABA, l'augmentation de la teneur en amidon des cellules stomatiques, la diminution de leur teneur en potassium et de leur pression osmotique, ce qui aboutit à la fermeture stomatique (WRIGHT et HIRON, 1969; ALLAWAY et MANSFIELD, 1970; MANSFIELD et JONES, 1971). Notons que d'autres substances sont susceptibles d'avoir des actions semblables ou antagonistes tels les herbicides (DUTTA, GUPTA et GUPTA, 1973) ou l'acide gibbérellique (SANKHLA et HUBER, 1974); il faut donc peut-être envisager une régulation par un équilibre entre plusieurs hormones, commune dans tous les phénomènes hormonaux.

#### I.23. *Théorie « ionique »*

Dès 1922 ILJIN, puis IMAMURA en 1943, constatent sur des lambeaux d'épiderme qu'il y a transport actif d'ions dans et hors des cellules de garde résultant de changements de pression osmotique. FUJINO (1967) souligne le rôle de l'ATP et de l'ATPase dans les échanges de $K^+$ qu'il observe dans ces cellules. Puis en 1968, dans une démonstration de la validité de la méthode d'étude du comportement des stomates sur lambeaux d'épiderme isolés, FISCHER constate l'effet catalytique de l'absorption du potassium par les cellules de garde sur l'ouverture sto-

matique : chez *Vicia faba*, pour que l'ouverture des stomates soit du même ordre de grandeur en réponse à la lumière et à un air privé de $CO_2$, sur disques foliaires flottant sur l'eau et sur lambeaux d'épiderme, il est nécessaire que ceux-ci soient en contact avec une solution contenant 10 mM de KCl.

Poursuivant ces travaux sur *Vicia faba*, FISCHER et HSIAO (1968) suggèrent que l'absorption d'ions $K^+$ — dont le rôle est prépondérant sur celui des ions $Cl^-$ dans le soluté KCl — serait en fait le mécanisme primaire de l'ouverture stomatique : l'absorption active de $K^+$ aurait sur l'ouverture stomatique soit un rôle direct par l'augmentation de la pression osmotique des cellules de garde soit un rôle indirect par une augmentation du pH de leur contenu impliquant un échange avec des protons du milieu cellulaire. Ces auteurs mettent en évidence une relation linéaire entre le degré d'ouverture des stomates et la concentration en KCl du milieu d'incubation des lambeaux d'épiderme isolés : une ouverture maximale de 12 $\mu$ est atteinte à partir d'une concentration en KCl de 10 mM, à la lumière avec un air privé de $CO_2$; ils calculent en outre qu'une augmentation de l'ouverture stomatique d'environ 7 $\mu$ correspond à une augmentation de la concentration en $K^+$ dans la cellule de garde de 300 mM, ce qui représente une variation de 12 bars pour la pression osmotique de la vacuole. En 1970, FISCHER confirme que le degré d'ouverture des stomates est bien en relation avec le contenu en $K^+$ des cellules de garde, l'accumulation de $K^+$ dans les stomates (MATHUR et SEN, 1972) maintenant ces derniers ouverts, quel que soit l'éclairement. RASCHKE et FELLOWS (1971) estiment en effet que les variations de concentration des cellules de garde en $K^+$ et à un degré moindre en $Cl^-$, sont suffisantes pour permettre les mouvements de stomates observés. Il s'est alors posé la question de la spécificité de ce cation pour ce type d'activité : dès 1969, HUMBLE et HSIAO soulignent que le processus d'absorption d'ions, pour le mécanisme de l'ouverture stomatique chez *Vicia faba*, requiert spécifiquement le potassium; à titre d'exemple des cations monovalents tels que $NH_4^+$ ou bivalents tels que $Mg^{++}$, $Ca^{++}$ ne provoquent pas d'ouverture; quant à l'anion accompagnateur aucun n'a d'effet spécifique en association avec $K^+$, hors un effet préférentiel de $Cl^-$ par rapport à $SO_4^{--}$. Cependant, à la même époque WILLMER et MANSFIELD (1969) mettent en doute le caractère spécifique du potassium : chez *Commelina communis*, pour une concentration de 0,1 M dans le milieu d'incubation des lambeaux d'épiderme isolés, la stimulation de l'ouverture par NaCl est 40 p. cent plus élevée que par KCl, ce qui suggère un rôle physiologique des ions sodium dans les mouvements stomatiques. Plus récemment, BHANDARI et SEN (1974) prouvent que d'autres substances peuvent agir dans ce sens en montrant une interaction positive du chlorure de potassium et de la 8 hydroxyquinoline sur l'ouverture stomatique dans les lambeaux d'épiderme isolés du *Citrullus colocynthis*.

Ces résultats obtenus avec la méthode d'étude sur lambeaux d'épiderme trouvent leur confirmation dans des travaux similaires portant sur des feuilles entières : PEASLEE et MOSS (1968), SAWHNEY et ZELITCH (1969), HUMBLE et RASCHKE (1971), RASCHKE et FELLOWS (1971) montrent que ce $K^+$ pourrait venir des cellules compagnes, que ses vitesses d'absorption sont suffisamment rapides pour rendre compte de la vitesse d'ouverture des stomates, et qu'il se trouverait surtout dans le cytoplasme des cellules : les cinétiques d'échanges de $K^+$ entre cellules de garde et cellules subsidiaires sont en effet concordantes avec celles des variations de l'ouverture stomatique après le début de l'éclairement ou de l'obscurité, les échanges de $K^+$ étant observables 1 à 2 mn après le début de l'éclairement ou de l'obscurité.

WILLMER et PALLAS (1973) généralisent ces observations à plusieurs espèces.

Finalement, les hypothèses formulées par FISCHER et HSIAO (1968) sur le mode d'action du potassium permettent d'établir une théorie « ionique » explicative des mouvements stomatiques telle que LEVITT l'a suggérée dès 1967 : l'échange de $K^+$ contre $H^+$ aurait pour conséquence une stimulation de l'hydrolyse de l'amidon d'où la production d'anions organiques compensateurs. Cette interprétation a conduit LEVITT (1974) à invoquer un transport de protons intervenant lors des mouvements stomatiques : il y aurait modification du potentiel transmembranaire des chloroplastes et du plasmalemme dans les cellules de garde à la suite du fonctionnement des enzymes photosynthétiques. Or, WILLMER *et al.* (1973) ont détecté la présence de phosphoénolpyruvate carboxylase en concentration élevée dans le cytoplasme des cellules de garde chez deux espèces du « type $C_3$ », *Tulipa gesnariana* L. et *Commelina communis*. Le fonctionnement de cette enzyme associé à celui de la ribulose 1,5-diphosphate carboxylase dans les chloroplastes se traduit par la synthèse d'anions organiques auxquels un rôle est attribué dans le maintien de la balance ionique au sein du cytoplasme; ce rôle est en effet rendu nécessaire par les échanges de cations ($H^+$, $K^+$) dont les conséquences sur les mouvements stomatiques peuvent être résumées ainsi : la « pompe à protons » amorcée par les photophosphorylations serait à l'origine d'un transport de protons du cytoplasme vers les chloroplastes d'où une alcalinisation du cytoplasme qui induit la conversion du $CO_2$ en $HCO_3^-$, substrat de la PEP-carboxylase pour la synthèse d'acides dicarboxyliques. Selon la concentration du $CO_2$ qui diffuse dans la cellule stomatique et selon la valeur correspondante du pH cellulaire, deux cas peuvent se présenter : ou bien l'ionisation de l'acide synthétisé (« produit de la réaction », voir schéma) déséquilibre la balance ionique du cytoplasme en établissant un potentiel transmembranaire négatif sur le plasmalemme par rapport à la cellule subsidiaire — ce qui est à l'origine d'un influx de potassium à partir de cette cellule —, ou bien la combinaison de l'anion organique et des protons régénère la molécule d'acide organique qui, diffusant dans les chloroplastes, est à l'origine par décarboxylation, du $CO_2$ substrat de la PEP-carboxylase — cela a pour conséquence un déséquilibre de la balance ionique du cytoplasme en établissant un potentiel transmembranaire positif sur le plasmalemme voisin de la cellule subsidiaire vers laquelle s'installe alors un efflux de potassium —. Dans un cas (influx de $K^+$) il y a augmentation de la pression osmotique dans la cellule de garde conduisant à l'ouverture des stomates; dans l'autre (efflux de $K^+$) c'est l'inverse qui se produit, conduisant à la fermeture des stomates.

En définitive, il ressort que le stomate est le siège d'activités intenses en relation avec les cellules avoisinantes. Comme LOUGUET l'a envisagé en 1974, un rôle capital doit être attribué à la présence d'acides organiques dans les cellules stomatiques; ils rendent compte notamment des fortes variations de pH observées et des échanges d'ions. BOWLING (1976), dans une étude sur le fonctionnement stomatique de *Commelina communis*, attribue même un rôle prépondérant au malate sur celui du potassium — ce qui explique les controverses sur la spécificité de $K^+$ vis-à-vis d'autres cations monovalents pour le mouvement des stomates —. Les acides organiques proviennent soit de carboxylations intenses dues à la présence simultanée de PEP-carboxylase dans le cytoplasme et de RUDP-carboxylase dans le chloroplaste, soit de fortes dégradations oxydatives dues à d'importantes activités respiratoires : PEARSON et MILTHORPE (1974) ont observé de nombreuses mitochondries hautement différenciées dont la proportion dans la cellule est trois fois plus élevée que celle des chloroplastes; ces auteurs établissent par ailleurs une corrélation entre l'ouverture des stomates et leur concentration en acide malique. Notons que ces derniers faits pourraient expliquer l'ouverture stomatique généra-

lement observée en l'absence de $CO_2$ à la lumière et à l'obscurité. De ces mécanismes qui règlent l'ouverture de l'ostiole dépend l'intensité de la transpiration stomatique. Nous pouvons désormais aborder les possibilités d'intervention sur ce processus par des substances à activité de type hormonale et (ou) métabolique, outre les modes d'intervention sur la surface d'échange de la feuille à l'aide de films ou d'autres procédés.

## II. — Action de différentes substances sur la transpiration

### II.1. — *Action de régulateurs de croissance*

De nombreux auteurs, ZELITCH (1965), LIVNE et VAADIA (1965), MEIDNER (1967), MANSFIELD (1967), LUKE et FREEMAN (1968), établissent que différents régulateurs de croissance agissent sur l'ouverture et la fermeture des stomates : par exemple MANSFIELD (1967) montre que le NAA, le NOXA, perturbent la concentration en $CO_2$ dans les feuilles, en augmentant la respiration et en diminuant la photosynthèse, ce qui a pour effet la fermeture des stomates, le 2,4 D agissant d'une façon plus directe; NOWAKOWSKI (1973) envisage l'action d'une autre hormone l'IAA, sur la transpiration au cours des stades primaires du développement végétatif chez *Triticum durum*. Mais c'est l'ABA qui semble jouer un rôle déterminant dans les mécanismes d'ouverture-fermeture des stomates, ainsi qu'il a été signalé précédemment.

LITTLE et EIDT (1968), MITTELHEUSER et STEVENINCK (1969, 1971), IMBER et TAL (1970), montrent que l'application d'ABA sur les feuilles diminue l'intensité de la transpiration du fait d'une fermeture des stomates; cette action peut se prolonger 9 jours après l'application (JONES et MANSFIELD, 1970). Inversement TAL et IMBER (1970) trouvent une déficience en ABA chez un mutant de Tomate qui ne peut fermer ses stomates. Des esters de l'ABA (JONES et MANSFIELD, 1972) sont également actifs. WRIGHT et HIRON (1969) montrent qu'il y a accumulation d'ABA dans du Blé parallèlement à la fermeture de ses stomates lorsqu'il est soumis à la sécheresse. Comme HOAD en 1973, HIRON et WRIGHT (1973) pensent qu'un choc hydrique induirait une accumulation d'ABA provoquant d'une façon réversible la fermeture des stomates; or, ZABADAL (1974) montre que la déshydratation de plantes intactes provoque une augmentation de la succion doublée d'une accumulation d'ABA; la fermeture hydroactive des stomates pourrait être contrôlée par cette hormone endogène. Pour KRIEDEMANN *et al.* (1972), il y a assez d'ABA endogène pour provoquer cette régulation stomatique, le temps de réponse pour la fermeture variant de 3 à 32 mn suivant les espèces étudiées. Comme nous l'avons vu, l'ABA agit directement sur les cellules stomatiques (HORTON, 1971), son action est réversible (CUMMINS, KENDE et RASCHKE, 1971), et il agit autrement que par une inhibition des groupements — SH, comme le fait la N-éthylmaléimide (MOURAVIEFF, 1973). En confirmation des résultats précédents, HORTON et MORAN (1972) montrent que les stomates demeurent fermés après traitement par l'ABA aussi bien de feuilles intactes que de lambeaux d'épiderme isolés. En outre, ces auteurs constatent que l'ABA — qui inhibe l'ouverture stomatique — inhibe l'influx d'ions $K^+$ dans les cellules de garde sur des lambeaux d'épiderme détachés de feuilles de *Vicia faba* en flottaison sur un milieu contenant 100 mM de KCl. D'après cette étude, l'effet de l'ABA sur les mouvements stomatiques est à relier à son effet sur l'influx de $K^+$ dans les cellules de garde. Par contre, les changements

dans l'ouverture stomatique seraient indépendants des changements dans la teneur en amidon de ces cellules. Or, pour Chrispeels et Yarner (1967), Lesham (1971), l'ABA inhiberait la synthèse de l'α-amylase et la sortie des protons. Dans les faits, d'après les travaux récents de Raghavendra, Rao et Das (1976), l'ABA agirait d'une façon réversible par inhibition de l'activité des photophosphorylations cycliques dans les chloroplastes des cellules de garde et par blocage de la formation d'acides organiques dans ces mêmes cellules.

En 1975, Uehara, Ogawa et Shibata ont étendu l'étude de l'effet de l'ABA sur la fermeture stomatique à celui de ses dérivés aldéhydiques, hydroxyméthylés et méthylés. Leur pouvoir de fermeture stomatique est mesuré à la lumière par une méthode porométrique sur des feuilles de *Brassica rapa* placées dans un air avec ou sans $CO_2$ à la concentration 0,03 p. cent; le pétiole des feuilles traitées plonge dans de l'eau additionnée d'une gamme de concentrations croissantes en ABA et en ses dérivés, allant de $10^{-8}$ à $10^{-4}$ M : d'après les résultats, seul le dérivé méthylé demeure inactif, les autres dérivés se révélant très efficaces, dès la concentration de 1 μM pour le dérivé hydroxyméthylé et de 0,1 μM pour le dérivé aldéhydique. Étant donné la grande activité du dérivé méthylé de l'ABA sur d'autres processus physiologiques tels que la germination des semences, l'élongation du coléoptile, ces auteurs constatent que les structures efficaces sur la fermeture stomatique sont différentes de celles requises pour d'autres activités; en conséquence, ils concluent que si le groupe méthylé hydrophobe est inactif sur la fermeture des stomates, le caractère hydrophile du groupe terminal serait essentiel pour une telle activité.

Comme nous l'avons annoncé, il faut cependant se garder de généraliser ce processus de régulation de la transpiration par voie hormonale, des actions antagonistes d'autres hormones ou d'autres substances pouvant intervenir. C'est ainsi que Cooper et Digby (1972) notent une interaction possible entre l'action de l'acide abcissique et celle de la kinétine : cette substance agit sur l'ouverture des stomates et diminue leur résistance aux échanges gazeux, ce qui a pour conséquence une augmentation de la perméabilité aux gaz de l'épiderme (Pallas et Box, 1970; Itai et Vaadia, 1971; Kirkham, Gardner et Gerloff, 1974). Par ailleurs des composés phénoliques tels que la scopolétine, l'acide chlorogénique, l'acide férulique (Michniewicz et Rozej, 1974) augmentent la perméabilité membranaire aux gaz (vapeur d'eau, $CO_2$) des cellules épidermiques ce qui permet l'ouverture des stomates et l'augmentation de la transpiration. Or, si en présence d'acide chlorogénique, l'ouverture des stomates présente bien une réponse linéaire en fonction de concentrations variables en ABA (Ogunkanmi, Tucker et Mansfield, 1973), il n'est pas possible, quelle que soit la concentration en ABA, d'obtenir une fermeture totale des stomates.

### II.2. — *Action « d'inhibiteurs métaboliques »*

Que ce soit le CCC, PMA, 8 HQ, B-Nine, NaDDC, ou d'autres fongicides, ces produits ont tous une action limitant l'intensité de la transpiration (Mishra et Pradhan, 1968, 1972; Mathur et Sen, 1972 *b*; Sivadjian, 1968). Ces auteurs notent que cette action est due à une ouverture moindre des stomates par un effet métabolique sur leur régulation chez les plantes traitées, et a pour conséquence un retard dans les dégâts qu'elles peuvent subir du fait d'une sécheresse excessive du sol.

Les deux « inhibiteurs métaboliques » les plus fréquemment retenus sont le CCC et le PMA. Nous les étudierons donc plus particulièrement.

II.21. *Le chlorure de chlorocholine*

Kacperska-Palacz et Egierszdorff (1972) notent une diminution de l'intensité de la transpiration chez des plantes traitées au CCC. En fait ce composé augmente la résistance à la sécheresse en amortissant les chocs hydriques dus à un manque d'eau pour les cultures, grâce à une réduction des surfaces foliaires individuelles, accompagnée d'une diminution de la production de poids (Imbamba, 1973) et d'une augmentation de la croissance radiculaire des plantes traitées (Robertson et Greenway, 1973).

C'est à cause de l'effet primordial dans le temps du CCC sur la croissance que son action éventuelle sur la transpiration n'est pas toujours apparente : lorsque la transpiration est rapportée à l'unité de surface foliaire, Imbamba (1973) note chez *Vigna unguiculata* que le CCC a peu d'action sur son intensité, car il provoque une augmentation de la densité stomatique de la feuille. Néanmoins, le CCC est capable d'empêcher l'ouverture normale des stomates en diminuant la production d'ATP : d'après Dalessandro, Vita et Lavecchia (1972) le CCC agirait en tant qu'antitranspirant par inhibition des phosphorylations oxydatives dans les mitochondries, l'acide gibbérellique *in vivo*, ayant une action inverse.

II.22. *L'acétate de phénylmercure*

II.221. *Action sur la transpiration*

De nombreux travaux ont été effectués sur le PMA et les résultats sont tous concordants en ce qui concerne l'action antitranspirante de ce produit (Shimshi, 1963 *a*, *b*; Davenport, 1966, 1967; Davenport, Fisher et Hagan, 1971; Palis, Paulsen et Powers, 1972-1973; Mathur et Sen, 1973; Coudret, 1971, 1972, 1973, 1974). Ce produit présente de plus l'intérêt d'être peu mobile et de rester localisé dans l'épiderme des feuilles ainsi que le confirme l'expérience de Sivadjian (1968) : lorsque seule une face d'une feuille est traitée, il n'y a que cette face qui voit l'intensité de sa transpiration diminuer.

Le mode d'action du PMA a été comparé à celui de sels de mercure ($HgCl_2$) sur l'activité d'hydrolases, du type $\alpha$ amylase (Pallas *et al.*, 1962); mais son efficacité antitranspirante provient d'une action de nature métabolique se situant essentiellement à un autre niveau. D'après les travaux de Davenport, Fisher et Hagan (1971), Raghavendra et Das (1972), Honeycutt et Krogmann (1972) et de Bradeen *et al.* (1973), le PMA inhibe d'une part la photophosphorylation non cyclique au niveau de la chaîne de transfert d'électrons passant par le cytochrome *b* 559, auquel est couplée la formation d'ATP; son point d'impact se situe donc au-delà du site d'action du 3 (3,4-dichlorophényl) — 1, 1-diméthylurée (DCMU). A fortes doses, le PMA inhibe totalement la photosynthèse ce qui rend compte de son effet toxique fréquemment rapporté par les auteurs (par exemple Davenport, 1967). D'autre part, l'application de PMA peut créer une déficience en phosphore dans la plante en freinant son passage dans le xylème du fait d'une inhibition plus forte de l'absorption des ions minéraux que de celle de l'eau (Emmert, 1974). En définitive, par cette double voie, le PMA a une action sur la synthèse de l'ATP.

Le PMA agit donc sur l'ouverture des stomates d'une manière analogue au CCC au niveau de la production d'ATP dont le blocage, via les phosphorylations oxydatives, empêche l'influx de $K^+$ dans les cellules de garde (SEN, 1973); empêchant l'ouverture des stomates, le PMA induit une augmentation de la résistance à la diffusion hors des feuilles de la vapeur d'eau (SLATYER et BIERHUIZEN, 1964) ce qui a pour conséquence d'y provoquer une augmentation du potentiel hydrique.

Notons que l'effet antitranspirant du PMA dû à l'action sur la production photosynthétique d'ATP au niveau du cytochrome *b* 559 et sur le transfert d'ions minéraux doublée d'une action sur le potentiel hydrique de la plante peut expliquer l'évolution au cours du temps de l'efficacité de ce produit : il peut se révéler maximal 3 jours après l'application du PMA sur les plantes (COUDRET, 1971, 1972, 1973, 1974).

II.222. *Actions secondaires sur le métabolisme des plantes*

Le PMA freine la croissance et la production de matière sèche des plantes traitées (SHIMSHI, 1963 *a*; COUDRET, 1974) en conséquence directe du blocage des photophosphorylations qui accompagne l'action de ce produit sur la transpiration; cependant, l'inhibition de la transpiration est plus importante que celle de la photosynthèse (SHIMSHI, 1963 *a*; SLATYER et BIERHUIZEN, 1964). PALIS, PAULSEN et POWERS (1972-1973) constatent en outre que le PMA provoque une accélération de la respiration à l'obscurité chez le Soja.

Enfin, si, dans certains cas, l'action différenciée du PMA peut être indépendante de l'état d'humidité du sol (SHIMSHI, 1963*b*), les conditions de l'environnement (salinité du sol par exemple) peuvent intervenir sur l'efficacité de ce produit mais à un degré moindre que pour les films hydrophobes.

## II.3. — *Action de films hydrophobes*

A la différence des deux groupes de substances cités précédemment, les films permettent une intervention sur l'évapotranspiration du système sol-plante ou sur le transpiration végétale, en constituant un revêtement externe soit à la surface du sol, soit à la surface du feuillage.

II.31. *Généralités sur les différents types de films proposés*

Une revue sur les propriétés physiques et chimiques de produits susceptibles de réduire l'évaporation de l'eau par la formation de films a été réalisée par FRENKIEL (1965). En fait, la diminution de l'évaporation de surfaces d'eau a pu être obtenue par le dépôt d'un film monomoléculaire hydrophobe à leur surface (Brevet d'invention de l'Hydrasyl, 1959; LA MER et HEALY, 1964, 1965; CARTAILLAC et ARMANGAU, 1973). A partir de ces résultats, l'idée est venue d'appliquer ces produits sur des plantes selon deux procédés : soit par pulvérisation foliaire afin de déposer à la surface de l'épiderme une pellicule limitant les pertes d'eau, soit par incorporation au sol afin d'en réduire l'évaporation de l'eau et d'y permettre une meilleure absorption radiculaire. A titre d'exemple citons les essais effectués par MIHARA et HAGIWARA (1960) et par MIHARA (1966) avec l'oxyéthylène docosanol

appelé Hydrasyl sous sa formulation commerciale. La composition de ce produit a été mise au point par cet auteur dans le but premier d'augmenter la température de l'eau des champs de riz inondés au Japon en protégeant la surface d'évaporation de la culture; plus tard l'Hydrasyl a été utilisé pour réduire les pertes d'eau dues au couvert végétal.

Les nombreuses substances testées sont généralement des dérivés cétyliques ou oxyéthyléniques de polyalcools ayant tous une action antitranspirante : l'Hydrasyl (Slatyer et Bierhuizen, 1964; Kadoda, 1969; Coudret, 1972; Ferron et Costes, 1974), l'octadécanol (Coudret, 1973), l'hexadécanol (Pallas et Bertrand, 1963; Atsatt et Bliss, 1963; Okanenko *et al.*, 1972). En fait les films hydrophobes utilisés ont une composition qui se rapproche de celle des constituants majeurs de la cire cuticulaire; Grincarevic et Radler (1967) trouvent que dans la cire cuticulaire des baies de raisin, ce sont les fractions hydrocarbonées à longues chaînes (alcools et aldéhydes) qui sont les plus actives sur la perméabilité à la vapeur d'eau. C'est pourquoi on peut supposer que des interactions s'établissent entre la surface végétale à traiter et le produit testé.

Outre les films ayant la composition décrite ci-dessus, des auteurs (Angus et Bielorai, 1965; Haigh et Heinlein, 1973) ont essayé d'autres produits comme les huiles de silicone, ou autres revêtements imperméables : à titre d'exemple, citons les essais effectués avec les silicones sur les arbres par Lee et Kozlowski en 1974 et les expériences réalisées avec une couverture à base de latex sur la reprise de sarments de Vigne par Alley et Curtis en 1974. De plus, toujours à la surface des organes transpirants, des chercheurs ont eu l'idée de déposer des films plastiques du type vinylique, films supposés plus perméables au $CO_2$ qu'à la vapeur d'eau : de nombreux essais ont été réalisés, mais les résultats obtenus ont été souvent décevants (Pallas *et al.*, 1962).

### II.32. *Modes d'action des films hydrophobes sur la transpiration.*

Le dépôt d'un film hydrophobe à la surface de l'épiderme a une action directe sur sa résistance à la diffusion de la vapeur d'eau en l'augmentant. Par ailleurs, si ce dépôt diminue souvent la croissance en freinant la photosynthèse, il permet une augmentation du potentiel hydrique des plantes : c'est ce que constatent Davenport, Fisher et Hagan (1972) avec la substance « Mobileaf », du même type que l'Hydrasyl. De ces informations, nous pouvons déduire les mécanismes (fig. 2) qui rendent compte de l'action antitranspirante des films; on peut aussi tenter d'expliquer l'efficacité optimale obtenue entre 3 et 5 jours après un traitement du feuillage avec les films antitranspirants (Shirley et Meuli, 1938; Coudret, 1971) : la voie 2 n'interviendrait qu'à travers une augmentation du potentiel hydrique des tissus, tandis que les voies 1 et 2 seraient conjointement actives au bout d'un certain temps, le produit paraissant alors plus efficace sur la diminution de l'intensité de la transpiration.

Les films antitranspirants ont en général une durée d'action d'une dizaine de jours à la suite de leur application. Notons que la variation dans le temps de l'efficacité relative du film peut provenir d'un effet de ce dernier sur la régulation stomatique : Davenport, Fisher et Hagan (1972) ont mesuré une ouverture d'ostiole trois fois plus élevée par rapport au témoin sous un revêtement de « Mobileaf »; or, ce revêtement peut n'être que partiel et son effet peut apparaître plus ou moins tôt comme nous le verrons.

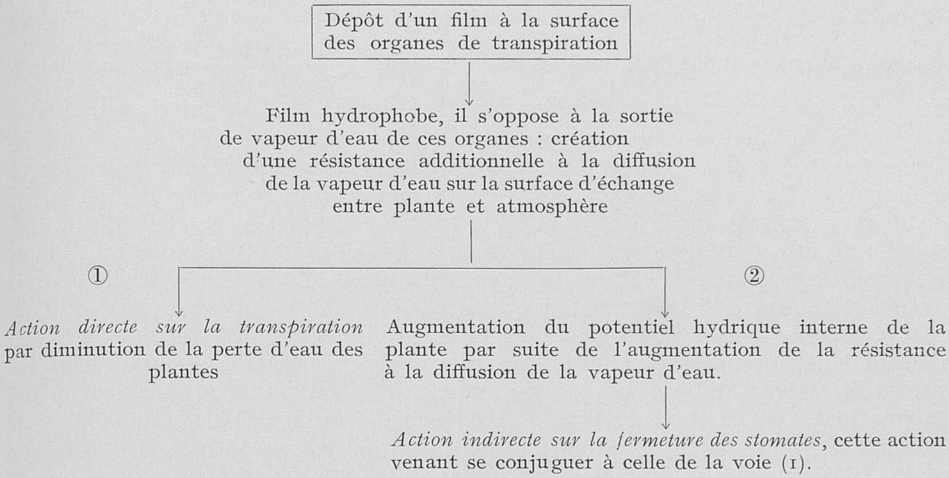



FIG. 2. — *Modes d'action antitranspirante des films hydrophobes.*

### II.33. *Actions secondaires de ces produits sur le métabolisme des plantes, et discussion de leur efficacité*

PALLAS et BERTRAND (1963) notent un ralentissement de la croissance chez du maïs traité avec de l'hexadécanol ou de l'octadécanol. SLATYER et BIERHUIZEN (1964) trouvent que l'Hydrasyl et l'alcool cétylique diminuent autant la photosynthèse que la transpiration; ANGUS et BIELORAI (1965) constatent que l'alcool cétylique cause des dommages aux plantes traitées. Enfin d'après NEUMANN (1974), les huiles de silicone accélèrent la sénescence des premières feuilles du Haricot, non en conséquence directe de la diminution de l'intensité de la transpiration qu'elles provoquent, mais du fait de la pénétration de l'huile dans les feuilles, ce qui empêcherait l'émission d'éthylène, d'où une concentration importante en ce gaz dans les tissus entraînant la sénescence. On peut en effet supposer qu'en augmentant la résistance de l'épiderme à la diffusion de la vapeur d'eau, ces substances créent en même temps des difficultés dans l'approvisionnement en $CO_2$ nécessaire à la photosynthèse, et ceci à travers un mode d'action physique et non plus métabolique comme pour le PMA. C'est ce qui ressort de l'étude des effets provoqués par des films antitranspirants sur la croissance, étude réalisée par DAVENPORT et URIU (1974).

Il faut noter que l'action des films hydrophobes sur le métabolisme des plantes peut se révéler avec une intensité variable dépendant de nombreux facteurs. Il y a toujours des répercussions sur la production de matière organique et de poids de matière sèche, mais deux cas sont à distinguer (COUDRET, 1974 *a*, *b*) :

— si les conditions de croissance sont optimales, il y aurait une baisse de cette production;

— si les conditions de croissance sont mauvaises (salinité anormale du sol, sécheresse, par exemple), ce sont ces conditions qui constitueraient le facteur

limitant de la croissance, et l'action antitranspirante du produit ne se doublerait pas d'un ralentissement de la croissance; le rapport $\frac{\text{photosynthèse}}{\text{transpiration}}$ serait augmenté; c'est dans ce dernier cas qu'il est normal d'envisager l'action de tels produits.

En ce qui concerne leur répercussion sur la transpiration, la diminution de son intensité est fonction de facteurs physiologiques et morphologiques propres à chaque espèce : c'est ce qui ressort des travaux les plus récents effectués sur les antitranspirants de type film (PALIS, PAULSEN et POWERS, 1972-1973; COUDRET, 1972, 1973, 1974; FERRON et COSTES, 1974 *a*, *b*; COUDRET et FERRON, 1975; FERRON et COSTES, 1977). Si l'efficacité de ces substances dépend comme celle de tout autre antitranspirant de la résistance naturelle des plantes aux pertes d'eau, il s'y ajoute pour le type « film » l'effet de la nature des cuticules traitées : celles-ci montrent une grande diversité de structure et de composition chimique (EGLINTON et HAMILTON, 1967; LANGE, 1969; MARTIN et JUNIPER, 1970) qui peut même se manifester en fonction du type de feuille et de son âge (TULLOCH, 1973).

En définitive, outre les problèmes de phytotoxicité, de perméabilité sélective au $CO_2$ (GALE et POLJAKOFF-MAYBER, 1967), l'utilisation de films antitranspirants par pulvérisations foliaires suppose résolus les problèmes de mouillabilité des surfaces végétales à traiter (GREENE et BUKOVAC, 1974). En comparant l'efficacité de l'Hydrasyl sur des limbes de Vigne et sur des limbes de Melon, GERBAUD (1974), FERRON et COSTES (1977) ont mis en évidence la variation de la capacité mouillante de ce produit due à la présence d'oléate de sodium : quand la concentration d'oléate de sodium dans le produit final (en p. cent, v/v) augmente dans la proportion de 1 à 6, l'indice d'efficacité de l'Hydrasyl diminue dans la proportion de 3 à 1 chez la Vigne alors qu'il ne varie pratiquement pas chez le Melon : ces faits sont attribués au pouvoir mouillant de l'antitranspirant qui est différent lorsque cette substance est appliquée à la surface d'un limbe cireux de Vigne ou à la surface d'un limbe pileux de Melon. Enfin faut-il encore que le film utilisé soit rentable pour la production végétale : POSSINGHAM, KERRIDGE et BOTTRILL (1969) ne trouvent pas d'action due à des films plastiques sur l'accumulation de glucides dans le raisin, mais notent une diminution dans la production de poids de matière sèche. Si chez la Vigne le rapport $\frac{\text{photosynthèse}}{\text{transpiration}}$ est en définitive augmenté par l'application de polyéthylène ou d'adipate d'éthyle, il n'en va pas de même chez le Citronnier cultivé et expérimenté dans les mêmes conditions (BRAVDO, 1972) : ici aussi apparaît la notion d'action spécifique des antitranspirants dont l'opportunité d'utilisation sera à nouveau discutée.

### II.4. — *Autres modes de diminution de la transpiration*

Il y en a essentiellement deux qui consistent :

— soit à diminuer l'énergie captée par le végétal à partir du soleil en réfléchissant le rayonnement infra-rouge absorbé par les plantes : par exemple utilisation de Kaolin ou de sulfate de zinc pour blanchir et diminuer la température des troncs d'arbres et des fruits (REDDY, SRINIVASA et SHAH, 1975); dans les faits, dès 1963, SERR et FOOT ont eu l'idée de pulvériser de la chaux sur des Noyers lorsque ceux-ci sont soumis à une période de sécheresse et de chaleur;

— soit à provoquer une réduction de l'ouverture de l'ostiole en agissant sur un paramètre climatique de la régulation stomatique : par exemple augmen-

tation de la concentration en $CO_2$ de l'air au voisinage des feuilles, à condition que la température et l'éclairement ambiants soient suffisants pour préserver la production de la culture. C'est pourquoi si le premier procédé est utilisable en plein champ, le second ne peut être envisagé que sous serre.

La revue bibliographique réalisée par GALE et HAGAN en 1966 sur le sujet donne un bon aperçu des travaux effectués dans ce sens et signalons que récemment, VAN BAVEL (1972, 1974) a envisagé l'action antitranspirante du $CO_2$ sur une culture de Sorgho.

## III. — Perspectives dans l'utilisation des antitranspirants

Les possibilités offertes par l'utilisation d'antitranspirants reposent sur leur effet primordial : la réduction des pertes d'eau de la plante entière ou de l'organe traités. Il s'y ajoute les applications rendues possibles par l'effet de barrière que réalise le film antitranspirant à l'interface feuillage-atmosphère. C'est pourquoi nous classerons en deux groupes les apports des antitranspirants.

### III.1. — *Applications de l'effet antitranspirant proprement dit*

Une revue des utilisations potentielles et des effets des antitranspirants sur la vie des plantes a été esquissée par DAVENPORT, HAGAN et MARTIN en 1969; ces auteurs notent bien que l'idée d'utiliser un tel procédé pour réduire la transpiration n'est pas nouvelle, mais que des recherches plus approfondies sur le sujet n'étaient encore à l'époque que peu nombreuses et relativement récentes.

#### III.11. *Effets sur les transplantations*

Les premières applications auxquelles ont songé un bon nombre de chercheurs sont les procédés offerts pour diminuer les pertes de matériel généralement subies lors du repiquage de jeunes semis.

Outre quelques études faites sur la production de légumes (travaux de MISHRA et PRADHAN 1968, 1972 sur le plant de Tomate) ou sur la reprise en pots de fleurs (travaux de MARTIN et LINK, 1973, sur le Chrysanthème), la plupart des efforts ont porté sur la réussite de transplantation de jeunes arbres — notamment de Conifères — en pépinières : c'est ainsi que MARSHALL et MAKI (1946) trouvent que le trempage de jeunes pins dans des cires favorise leur reprise après transplantation; ALLEN (1956) GARTNER, O'ROURKE et HAMMER (1970) obtiennent le même résultat avec du vinyl-latex badigeonné sur de jeunes épicéas; en 1970, RABENSTEINER et TRANQUILLINI notent l'importance des antitranspirants comme moyen de conservation de la fraîcheur des racines lors de la transplantation de jeunes arbres. A ces études sur la survie des plants, s'ajoutent des recherches sur les effets secondaires des antitranspirants pour leur croissance, la germination de leurs graines (CHANEY, 1974) ou même pour la distribution et l'utilisation des assimilats chez des espèces dont on récolte la sève (travaux de OLOFIN BOBA, 1974,

sur *Pinus resinosa*). En 1961, GALE obtient des résultats moins univoques : sur le Haricot, à la suite d'études ménées sur milieu contrôlé, cet auteur ne constate que peu d'effet lorsqu'il transpose la méthode d'une intervention.

### III.12. *Action sur la résistance des plantes à certaines conditions de vie extrêmes*

On peut songer à utiliser les antitranspirants pour lutter contre des facteurs capables de détériorer l'état hydrique interne de la plante : le froid et la sécheresse.

#### III.121. *Tolérance au froid*

D'après les travaux cités à titre d'exemple de LEE, STADELMANN et WEISER (1972), des antitranspirants du type acide décenyl succinique ou copolymères acryliques, sont capables de diminuer les dégats causés par la dessiccation due au gel.

#### III.122. *Tolérance à la sécheresse*

Pour des raisons fondamentales fréquemment citées dans cet article, portant sur les effets variables et parfois inattendus des antitranspirants, le projet de remplacer, pendant toute la durée d'une culture, l'irrigation par un tel traitement doit être abandonné. Il n'en reste pas moins que dans les zones arides, la pulvérisation foliaire d'antitranspirants revêt un intérêt économique en assurant une meilleure conservation de l'eau du sol. En conséquence, on peut s'attendre à un meilleur rendement de l'utilisation de l'eau d'irrigation dont la quantité fournie peut être réduite : FUEHRING (1973) a constaté une augmentation du rendement en grains sur une culture de Sorgho, grâce à un traitement antitranspirant en conditions d'irrigation limitée. DAVENPORT, MARTIN et HAGAN (1973) ont montré que la pulvérisation d'un film sur le feuillage de Laurier rose réduit l'utilisation de l'eau du sol chez les plantes traitées dans la proportion de 40 p. cent par rapport au témoin; étant donné l'évolution au cours du temps de l'efficacité du produit, ils ont calculé que cet effet permet de retarder d'au moins deux semaines les besoins en irrigation des plantations.

Par ailleurs, ces mêmes auteurs ont montré en 1974, sur une culture de Pêcher qu'un antitranspirant peut améliorer la taille des fruits au même titre qu'une irrigation, lorsque celle-ci n'est souhaitable que sur une courte période précédant la récolte; ceci nous amène à envisager les nombreuses études faites dans ce sens sur les arbres fruitiers.

### III.13. *Effet sur la production de fruits charnus*

C'est là semble-t-il le but principal auquel tend tout le travail de l'équipe de chercheurs à l'Université de DAVIS en Californie. Ce travail a été conduit en deux étapes : recherche d'une amélioration de l'état hydrique de l'arbre entier et recherche d'un effet secondaire sur la croissance du fruit dans la mesure où celle-ci crée un appel d'eau important pour sa maturation.

### III.131. *Amélioration de l'état hydrique de l'arbre*

Les mesures faites avec un dendromètre montrent que le tronc des arbres peut se rétrécir d'une façon notable pendant le jour lorsque le taux de transpiration excède le taux d'absorption de l'eau; la mesure de ce phénomène (« shrinkage ») est un bon indicateur du déficit en eau dans le végétal. Citons à titre d'exemple, les mesures faites par DAVENPORT, HAGAN et MARTIN (1969) sur le tronc de l'Amandier : après pulvérisation foliaire d'un film antitranspirant (CS-6432) sur des arbres âgés de cinq ans, le « shrinkage » quotidien est réduit dans la proportion de 50 p. cent environ par rapport au témoin, indiquant qu'il est possible de maintenir l'équilibre hydrique de l'arbre grâce à une augmentation de potentiel hydrique au niveau foliaire. Des résultats du même ordre ont été obtenus sur le Pêcher (DAVENPORT, MARTIN et HAGAN, 1974).

### III.132. *Action secondaire sur la croissance du fruit*

La même équipe de chercheurs (DAVENPORT, FISHER et HAGAN, 1972) a mesuré l'effet de l'antitranspirant « Mobileaf » sur le potentiel hydrique des feuilles du Pêcher (*Prunus persica*) : il passe de — 20 à — 15 atmosphères, 18 jours après le traitement; parallèlement, il y a une augmentation statistiquement significative de 6 p. cent du volume final des fruits. Des études semblables ont été faites sur des Cerisiers et des Oliviers avec un autre film hydrophobe le RD-9 (DAVENPORT, URIU et HAGAN, 1972; DAVENPORT *et al.*, 1972). Chez le Cerisier, les auteurs comparent les effets d'un traitement précoce ou tardif : pour une récolte prévue le 11 juin, si le traitement est fait le 19 mai ou le 1er juin, le volume final du fruit est augmenté respectivement de 11,5 p. cent ou de 15 p. cent. Le traitement antitranspirant semble d'autant plus bénéfique qu'il est appliqué plus tard lors de la maturation du fruit; alors que le traitement précoce réduit le poids de matière sèche dans la proportion de 16 p. cent, cette action n'apparaît pas pour un traitement tardif qui présente donc tous les avantages économiques. Chez l'Olivier, une étude complète a été réalisée tant sur l'arbre entier que sur la feuille et le fruit : le film antitranspirant, par réduction du taux de transpiration diminue de moitié l'intensité du phénomène de « shrinkage » du tronc; il en est de même pour le déficit hydrique des feuilles dont le potentiel en eau s'accroît de — 20 à — 10 atmosphères tandis que celui des fruits varie de — 25 chez les témoins à — 18 chez les arbres traités. En conséquence le volume final des olives est augmenté de 9 p. 100, 14 jours après le traitement. Étant donné que dans ces conditions l'antitranspirant n'affecte pas d'une façon significative leur poids en matière sèche, son effet sur la taille du fruit à la récolte semble bien provenir de l'amélioration de l'état hydrique de l'arbre. Cependant des réserves sont encore une fois à apporter sur un traitement réalisé avec cet objectif: son époque d'application doit être choisie à un moment opportun, c'est à dire lorsque les conditions ambiantes sont vraiment défavorables, sous peine de voir diminuer la teneur en matière sèche des fruits.

Une autre action sur la fructification consiste en un retard de la maturation des fruits (GALE *et al.*, 1964), ce qui peut être économiquement utile pour la rentabilité de la production fruitière; ces auteurs notent à nouveau une différence de comportement suivant l'espèce étudiée, leurs observations faites sur le Muscat ne s'appliquant pas chez le Bananier.

Enfin toujours d'après les travaux de l'équipe de DAVIS, l'effet le plus marquant des antitranspirants est de limiter fortement l'apparition de rides sur les fruits. Ce phénomène se développe plus vite que la diminution de taille du fruit

lorsque les arbres subissent l'action desséchante des vents. Si 85 p. cent des fruits sont ridés chez les arbres exempts de films, 8 à 10 p. cent seulement montrent quelques signes de flétrissement chez les arbres traités; ces fruits, par ailleurs plus fermes, ont en conséquence une plus grande valeur commerciale.

Ce dernier résultat nous amène à envisager le dernier volet de l'action antitranspirante, *sensu stricto*, sous son aspect appliqué.

III.14. *Effet sur la conservation des organes excisés*

D'après Davenport (1973), outre l'effet positif d'un traitement antitranspirant sur le rendement en poids des fruits sur pied, l'avantage du film est sa persistance après la récolte, ce qui réduit d'au moins 50 p. cent la vitesse de dessiccation des fruits transportés, puis stockés sur les marchés, la pellicule du produit pouvant être facilement éliminée par brossage. Citons enfin une action inattendue sur l'apparence du fruit : Barmore *et al.* (1974) constatent un développement d'anthocyanes sur le fruit de Mangue, en réponse à une pulvérisation antitranspirante avant la récolte.

Cependant, les effets toxiques éventuels des résidus des films sur les fruits consommés n'ont pas encore été complètement évalués.

Par ailleurs, l'application de films hydrophobes sur les feuilles et bractées (autre exemple d'application de l'Hydrasyl, communication personnelle de la Société Standa Industrie) ou l'addition d'ABA à l'eau fournie aux fleurs coupées (travaux de Kohl et Rundle, 1972, sur les roses) a pour effet de prolonger la vie de ces fleurs en les protégeant contre les pertes d'eau.

III.2. — *Application de l'effet de « barrière » spécifique des films antitranspirants*

Cet effet physique d'isolement du feuillage vis-à-vis de l'atmosphère peut être bénéfique de deux façons :

— soit en protégeant les plantes contre les attaques par des insectes ou des champignons : d'après Davenport, Hagan et Martin (1969), on peut songer à incorporer un antitranspirant de type hydrophobe dans une pulvérisation de pesticide : il en résulte souvent une lente polymérisation du mélange obtenu à la surface de la feuille, ce qui augmente l'effet résiduel de l'insecticide ou du fongicide; il s'agit là d'une protection éventuelle des plantes contre les maladies parasitaires;

— soit en protégeant les plantes contre l'action nocive de certains gaz atmosphériques; ceux-ci étant susceptibles de diffuser dans la plante par voie stomatique (outre la voie cuticulaire), il faut noter que cet effet peut être attribué non seulement à des antitranspirants de type « film » mais aussi à des antitranspirants de type « métabolique » : Kadoda (1969) cite une action protectrice du PMA et de l'Hydrasyl face aux dommages causés par le $SO_2$, grâce à une augmentation de la résistance des tissus foliaires à la pénétration de ce gaz Par ailleurs, Adedipe, Khatamian et Ormrod (1972) notent une possibilité de réduire par cette voie la phytotoxicité de l'ozone. On peut également imaginer un effet de « barrière » pour le feuillage vis-à-vis de l'oxyde de carbone. Il s'agit donc là d'une protection des plantes contre la pollution atmosphérique.

## IV. — Discussions de l'opportunité de l'utilisation des antitranspirants, conclusion

Il s'agit là de produits sur lesquels de nombreux chercheurs se sont penchés, en raison du bénéfice que l'on pouvait en attendre pour améliorer la productivité végétale. La preuve en est dans l'abondante littérature portant sur ce sujet, pour lequel les travaux sont actuellement centrés sur le rôle élargi de substances naturelles : citons à titre d'exemple la découverte récente de l'équipe de WELLBURN *et al.* (1974) sur l'activité antitranspirante du trans-farnésol, les recherches faites par LOVEYS et KRIEDEMANN (1974) chez la Vigne avec l'acide phaséique, hormone endogène, dont l'action sur la résistance stomatique serait encore plus marquée que celle de l'acide abscissique. Ceci nous amène à noter que désormais les études sur les antitranspirants apparaissent comme les annexes d'études plus fondamentales axées sur la compréhension des mécanismes de la régulation stomatique ou sur la physiologie de la photosynthèse.

Actuellement, en ce qui concerne l'agriculture, l'utilisation des antitranspirants est encore controversée. Tout au long de cet article, nous avons émis des réserves sur l'action des antitranspirants qui peut conduire à des résultats inattendus, parfois décevants. En effet, rappelons que cette efficacité dépend d'un ensemble complexe de facteurs déterminant la perméabilité cuticulaire et la régulation stomatique : l'espèce végétale, par sa morphologie et sa physiologie, le milieu environnant, par son climat, comme le souligne DAVENPORT dès 1967. Dans ces conditions, un antitranspirant peut se révéler « pro-transpirant » : cet effet paradoxal peut se produire soit pour des raisons physiologiques, dans le cas de substances à « effet métabolique » tel le PMA susceptible d'empêcher la fermeture des stomates en conditions de « stress » (DAVENPORT, FISHER et HAGAN, 1971), soit pour des raisons morphologiques, dans le cas de substances à « effet de film », tel l'Hydrasyl susceptible de provoquer une augmentation de la transpiration par suite d'un étalement hétérogène (FERRON et COSTES, 1977). Dans ces derniers cas, il convient de connaître à la fois les modes d'action du produit et les types de réponse de la plante.

En conséquence, à la condition d'études préalables pour déterminer le produit approprié à chaque plante et à son milieu ainsi que sa concentration optimale, les antitranspirants peuvent être utiles en agriculture et en horticulture. Les travaux de PASTERNAK et WILSON (1971) sur l'efficacité comparée d'un traitement avec du PMA sur des cultures de Tomate, Maïs, Sorgho, Coton et Arachide à l'extérieur et à l'intérieur d'une serre, montrent que l'efficacité positive d'un produit ne peut pas être généralisée d'emblée, et sa mise en œuvre doit toujours être menée d'une façon rationnelle. Finalement, il nous semble que l'utilisation d'antitranspirants devrait être restreinte à deux types d'applications : la protection d'organes à taux de transpiration élevé (jeunes semis en transplantation) et la protection des plantes contre les « coups de chaleur et de sécheresse ». Ce dernier type d'application peut être envisagé pour les cultures sous serre avec l'Hydrasyl : en effet, dans la serre expérimentale de Grignon (résultats non publiés), il n'a pas été constaté d'augmentation mesurable de la température interne des feuilles après pulvérisation de cet antitranspirant dans une gamme de concentration allant de 1 à 5 p. cent (v/v dans l'eau) sur du Melon (*Cucumis melo* L., var. « Doublon ») en culture sur sable arrosé de solution nutritive; de même avec une culture post-hivernale sous serre d'Aubergine (*Solanum melongena* L. var. « Violette de Barbentane ») pour laquelle

le traitement à l'Hydrasyl empêche les feuilles de se faner lorsque la température s'élève.

Enfin, en tenant compte des limites de leur champ d'application, les antitranspirants peuvent être considérés comme des outils de recherche dans laquelle leur apport est certain : dès 1968, HUNT et IMPENS ont utilisé des antitranspirants pour étudier la résistance des feuilles à la diffusion externe des gaz ainsi que les variations des résistances au passage de l'eau dans les différentes parties d'un végétal. On peut ainsi espérer que ces produits aideront à clarifier la complexité des mécanismes d'ouverture et de fermeture des stomates. A partir des données plus précises que ces recherches devraient apporter, le problème du contrôle et de la valorisation de l'utilisation de l'eau par les cultures pourrait être alors repris et développé en associant l'utilisation d'antitranspirants à d'autres modes d'action sur le bilan hydrique des plantes, tels la sélection génétique pour l'adaptation des variétés et le choix de porte-greffes appropriés ainsi que les techniques culturales.

*Reçu pour publication en avril 1977.*

## Summary

*Modes of intervention in plant transpiration : effect of antitranspirants*

This bibliographical review is aimed at the rationalization of the use of antitranspirants, considering their bearing in agriculture as well as in research.

Firstly, the authors discuss the main explanatory theories of stomatal movements: " classical ", " hormonal ", and " ionic " theories are treated. Secondly, they enumerate various modes of intervention in stomatal and cuticular plant transpiration:

— action of growth regulators (auxines, abcisic acid...);
— action of metabolic inhibitors (chlorocholine chloride, phenylmercuric acid...);
— action of hydrophobic films;
— other proceedures, operating either by reduction of absorbed energy by the plant (reflexion of infra-red), or by diminution of the stomatal aperture (use of a climatic parameter of stomatal regulation).

Finally, the perspectives offered by the use of antitranspirants are described, as much in the application of the " antitranspirant effect " properly speaking, as in the promotion of the " barrier effect " of antitranspirant films.

In conclusion, the authors stress that these products require careful experimentation before use. However, it is best to exploit their beneficial character for the conservation of excised organs or young seedlings and in the protection of green house crops.

Furthermore, their use as research tools is to be considered, for example, as applied to the resistance of leaves to external gaseous diffusion.

## Références bibliographiques

ADEDIPE N. O., KHATAMIAN H., ORMROD D. P., 1972. Stomatal regulation of ozone phytotoxicity in tomato. *Z. Pflanzenphysiol.*, **68**, (4), 323-328.

ALLAWAY W. G., MANSFIELD T. A., 1970. Experiments and observations on the after-effects of wilting on stomata of *Rumex sanguineus*. *Can. J. Bot.*, **48**, 513-521.

ALLEN R. M., 1955. Foliage treatments improve survival of longleaf pine planting. *For. J.*, **53**, 724-727.

ALLEY K., CURTIS J., 1974. Rooting of grapevine cuttings. IV. Use of antitranspirants and latex paint in the rooting of dormant grapevine cuttings and rootings. *Amer. J. Enol. Vitic.*, **25**, (**1**), 50-54.

ANGUS D. E., BIELORAI H., 1965. Transpiration reduction by surface films. *Aust. J. agric. Res.*, **16**, (2), 107-112.

ATSATT P. R., BLISS L. C., 1963. Some effects of emulsified hexa-octadecanol on germination establishment and growth of Kentucky bluegrass. *Agron. J.*, **55**, (6), 533-537.

BARMORE C. R., SPALDING D. H., MCMILLAN Jr. R. T., 1974. Anthocyanin development in mango fruit in response to a preharvest antitranspirant spray. *Hortscience*, **9**, (2), 114-115.

BHANDARI M. C., SEN D. N., 1974. Interactions of potassium chloride and 8 hydroxyquinoline in stomatal regulation of isolated leaf epidermal strips of *Citrullus colocynthis*. *J. Indian Bot. Soc.*, **53**, (3-4), 178-182.

BOWLING D. J. F., 1976. Malate-switch hypothesis to explain the action of stomata. *Nature*, **262**, 393-394.

BRADEEN D. A., WINGET G. D., GOULD J. M., ORT D. R., 1973. Site-specific inhibition of photophosphorylation in isolated spinach chloroplasts by mercuric chloride. *Plant Physiol.*, **52**, 680-682.

BRAVDO B. A., 1972. Effect of several transpiration suppressants on carbon dioxide and water vapor exchange of citrus and grapevine leaves. *Physiol. Plant.*, **26**, 152-156.

Brevet d'invention, n° 1 221353, P.V. n° 789.568, Paris 1959, NIKKENS CHEMICALS C° LTD, Japon.

CARTAILLAC J. L., ARMANGAU C., 1973. Action antiévaporante et perméabilité à l'oxygène d'un film monomoléculaire d'esters d'alcools gras. *I.C.I.D. Bull.*, 78-80.

CHANEY W. R., 1974. Effects of antitranspirants on seed germination, growth and survival of tree seedlings. *Plant Soil.*, **40**, (1), 225-229.

CHRISPEELS M. J., VARNER J. E., 1967. Hormonal control of enzyme synthesis: on the mode of action of gibberellic acid and abscisin in aleurone layers of barley. *Plant Physiol.*, **42**, 1008-1016.

COOPER M. J., DIGBY J., COOPER P. J., 1972. Effects of plant hormones on the stomata of barley: a study of the interaction between abscisic acid and kinetin. *Planta*, **105**, 43-49.

COSTES C., 1960. Absorption et utilisation de l'énergie lumineuse par les végétaux cultivés dans les conditions naturelles. *Ann. Physiol. Vég.*, **3**, 175-229.

COUDRET A., 1971. Action de cinq inhibiteurs chimiques de la transpiration sur la transpiration et la teneur en eau de *Berberis vulgaris* L. var. *atropurpurea*. *Bull. Soc. Lin. Norm.*, **102**, 63-70.

COUDRET A., 1972. Modifications de l'équilibre hydrique et salin chez *Plantago maritima* L. et *Plantago lanceolata* L. par les antitranspirants. *Bull. Soc. bot. Fr.*, **119**, 3-12.

COUDRET A., 1973. Transpiration, teneur en eau et en sodium chez quelques halophytes sahariennes. Action des antitranspirants. *Bull. Écol.*, **4**, (2), 87-94.

COUDRET A., 1974 *a*. Production de matière sèche et de matière organique chez les *Plantago maritima* L. var. *graminaea* et *Plantago lanceolata* L. soumis à l'action d'antitranspirants. *C.R. Acad. Sci.* Paris, **278**, 2633-2636.

COUDRET A., 1974 *b*. Production of dry matter and organic matter, enriching in water and sodium in *Plantago maritima* L. var. *graminaea* and *Plantago lanceolata* L. under the effect of antitranspirants. *Proc.* **19***th intern. hort. Congr.*, Varsovie, sept. 1974, Ib, p. 646.

COUDRET A., FERRON F., 1975. Étude des échanges hydriques chez *Plantago maritima* L. var. *graminaea* et *Plantago lanceolata* L. à l'aide d'une méthode isotopique avec l'eau tritiée : action d'un antitranspirant. *Physiol. vég.*, **13**, 2, 203-213.

CUMMINS W. R., KENDE H., RASCHKE K., 1971. Specific and reversibility of the rapid stomatal response to abscisic acid. *Planta*, **99**, 347-351.

CURTEL M. G., 1890. Recherches physiologiques sur la transpiration et l'assimilation pendant les nuits norvégiennes. *Rev. gen. Bot.*, **2**, 7-16.

CURTIS O. F., 1936. Leaf temperatures and the cooling of leaves by radiation. *Plant Physiol.*, **11**, 343-364.

DALESSANDRO G., VITA F., LAVECCHIA R., 1972. Inhibition of oxydative phosphorylation on mitochondria isolated from pea seedlings treated with CCC. *Z. Pflanzenphysiol.*, **66**, (3), 254-257.

DAVENPORT D. C., 1966. Effects of phenylmercuric acetate on transpiration and growth of small plots of grass. *Nature*, **212**, 801-802.

DAVENPORT D. C., 1967. Effects of chemical antitranspirants on transpiration and growth of grass. *J. exp. Bot.*, **18**, (55), 332-347.

DAVENPORT D. C., HAGAN R. M., MARTIN P. E., 1969. Antitranspirant uses and effects on plant life. *Calif. Agric.*, **235**, 14-17.

DAVENPORT D. C., FISHER M. A., HAGAN R. M., 1971. Retarded stomatal closure by phenylmercuric acetate. *Physiol. Plant.*, **24**, 2, 330-336.

DAVENPORT D. C., FISHER M. A., HAGAN R. M., 1972. Some counteractive effects of antitranspirants. *Plant Physiol.*, **49**, 722-724.

DAVENPORT D. C., URIU K., HAGAN R. M., 1972. Sizing cherry fruit with antitranspirant sprays. *Calif. Agric.*, **26**, (8), 9-10.

DAVENPORT D. C., URIU K., MARTIN P. E., HAGAN R. M., 1972. Antitranspirants increase size, reduce shrivel of olive fruit. *Calif. Agric.*, **26**, (7), 6-8.

DAVENPORT D. C., 1973. Leaf v.s. fruit coverage with antitranspirants for sizing fruit. *Hortscience*, **8**, (2), p. 98.

DAVENPORT D. C., MARTIN P. E., HAGAN R. M., 1973. Effects of an antitranspirant on water use by highway Oleander (*Nerium oleander* L.) plantings. *J. Amer. Soc. hort. Sci.*, **98**, (5), 421-425.

DAVENPORT D. C., MARTIN P. E., HAGAN R. M., 1974. Antitranspirants to size peaches and replace preharvest irrigation. *Hortscience*, **9**, (3), 188-189.

DAVENPORT D. C., URIU K., 1974. Effects of film antitranspirants on growth. *J. exp. Bot.*, **25**, (85), 410-419.

EGLINTON G., HAMILTON R. J., 1967. Leaf epicuticular waxes. *Science*, **156**, (3780), 1322-1335.

EMMERT F. H., 1974. Inhibition of phosphorus and water passage across intact roots by polyethylene glycol and phenylmercuric acetate. *Plant Physiol.*, **53**, 663-665.

FERRON F., COSTES C., 1974 *a*. Efficacité variable d'un antitranspirant en fonction des espèces végétales. *Agrochimica*, **18**, (4), 369-374.

FERRON F., COSTES C., 1974 *b*. Study of an antitranspirant efficiency — Hydrasyl — with an isotopic method using tritiated water. Proc. **19**th *Intern. hort. Congr.*, Varsovie sept. 1974, vol. 1B, p. 698.

FERRON F., COSTES C., 1977. Study of the efficiency of Hydrasyl as an antitranspirant with an isotopic method. *Physiol. Plant.*, **39**, 196-200.

FISCHER R. A., 1968. Stomatal opening in isolated epidermal strips of *Vicia faba*. I. Responses to light and to $CO_2$ free air. *Plant Physiol.*, **43**, 1947-1952.

FISCHER R. A., HSIAO T. C., 1968. Stomatal opening in isolated epidermal strips of *Vicia faba*. II. Responses to KCl concentration and the role of potassium absorption. *Plant Physiol.*, **43**, 1953-1958.

FISCHER R. A., 1970. Role of potassium in stomatal opening. *Plant. Physiol*, **47**, 555-558.

FRENKIEL J., 1965. Reduction de l'évaporation : principes physiques et chimiques et revue des expériences. *Zone aride*, **27**.

FUEHRING H. D., 1973. Effect of antitranspirants on yield of grain sorghum under limited irrigation. *Agron. J.*, **65**, (3), 348-351.

FUJINO M., 1967. Role of adenosine triphosphate and adenosine triphosphatase in stomatal movement. *Sci. Bull. Fac. Educ. Nagasaki Univ.*, **18**, 1-47.

GALE J., 1961. Studies on plant-antitranspirants. *Physiol. Plant.*, **14**, 777-786.

GALE J., POLJAKOFF-MAYBER A., NIR I., KAHANE I., 1964. Essais préliminaires d'application au champ d'antitranspirants sur Vignes et Bananiers. *Austr. J. agric. Res.*, **15**, (6), 929-936.

GALE J., HAGAN R. M., 1966. Plant antitranspirants. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **17**, 269-282.

GALE J., POLJAKOFF-MAYBER A., 1967. Plastic films on plants as antitranspirants. *Science*, **156**, 3775, 650-652.

GARTNER J. B., O'ROURKE F. L., HAMMER C. L., 1950. The influence of a plastic resin in increasing survival with summer transplanted evergreens under severe conditions. *Proc. Amer. Soc. hortic. Sci.*, **56**, 508-510.

GATES D. M., 1964. Leaf temperature and transpiration. *Agron. J.*, **56**, 273-277.

GERBAUD A., 1974. Étude de l'action antitranspirante de l'Hydrasyl appliqué sur les limbes de Melon et de Vigne. *D.E.A., Applications en Physiologie végétale, Université de Paris XI*, Orsay.

GREENE D. W., BUKOVAC M. J., 1974. Stomatal penetration: effect of surfactants and role in foliar absorption. *Am. J. Bot.*, **61**, (1), 100-106.

GRINCAREVIC M., RADLER F., 1967. The effect of wax components on cuticular transpiration. Model experiments. *Planta*, **75**, 23-27.

HAIGH W. G., HEINLEIN J. P., 1973. Silicone antitranspirants: a possible mechanism of action. *Plant Physiol.*, **51**, supplement — Alberta 17-21 Juin, réf. 46.

HIRON R. W. P., WRIGHT S. T. C., 1973. The role of endogenous abscisic acid in the response of plants to stress. *J. exper. Bot.*, **24**, 769-781.

HOAD G. V., 1973. Effect of moisture stress on abscisic acid levels in *Ricinus communis* L. with particular reference to phloem exudate. *Planta*, **113**, 367-372.

HONEYCUTT R. C., KROGMANN D. W., 1972. Inhibition of chloroplast reactions with phenylmercuric acetate. *Plant Physiol.*, **49**, 376-380.

HORTON R. F., 1971. Stomatal opening: the role of abscisic acid. *Can. J. Bot.*, **49**, 583-585.

HORTON R. F., MORAN L., 1972. Abscisic acid inhibition of potassium influx into stomatal guard cells. *Z. Pflanzenphysiol.*, **66**, (3), 193-196.

HUMBLE G. D., HSIAO T., 1969. Specific requirement of potassium for light activated opening of stomata in epidermal strips. *Plant Physiol.*, **44**, 230-234.

HUMBLE G. D., RASCHKE K., 1971. Stomatal opening quantitatively related to potassium transport. Evidence from electron probe analysis. *Plant Physiol.*, **48**, 447-453.

HUNT L. A., IMPENS I. I., 1968. Use of antitranspirants in studies of the external diffusion resistance of leaves. *Oecol. Plant.*, **3**, (1), 1-6.

IDSO S. B., BAKER D. G., 1967. Relative importance of reradiation, convection and transpiration in heat transfer from plants. *Plant Physiol.*, **42**, 631-640.

ILJIN W. S., 1922. Physiologischer Pflanzenschutz gegen schädliche Wirkung von Salzen. *Biochem. Z.*, **132**, 526-542.

IMAMURA S., 1943. Untersuchungen über den Mechanismus der Turgorschwankung der Spaltöffnungsschliesszellen. *Jap. J. Bot.*, **12**, 251-347.

IMBAMBA S. K., 1973. Response of cowpeas to salinity and (2 chloroethyl) trimethyl-ammonium chloride (CCC). *Physiol. Plant.*, **28**, 346-349.

IMBER D., TAL M., 1970. Phenotypic reversion of flacca, a wilty mutant of tomato by abscisic acid. *Science*, **169**, 592-593.

ITAI C., VAADIA Y., 1971. Cytokinin activity in water stressed plants. *Plant Physiol.*, **47**, 87-90.

JONES R. J., MANSFIELD T. A., 1970. Suppression of stomatal opening in leaves treated with abscisic acid. *J. exper. Bot.*, **21**, 714-719.

JONES R. J., MANSFIELD T. A., 1972. Effects of abscisic acid and its esters on stomatal aperture and the transpiration ratio. *Physiol. Plant.*, **26**, 321-327.

JUMELLE H., 1890. Influence des anesthésiques sur la transpiration des végétaux. *Rev. gen. Bot.*, **2**, 417-432.

KACPERSKA-PALACZ A., EGIERSZDORFF S., 1972. Effects of cold hardening and CCC treatment on hydration and frost and desiccation hardiness of plant tissues. *Bot. Gaz.*, **133**, (4), 355-360.

KADODA M., 1969. Études sur la diminution des dégats des plantes causés par la contamination de l'air ($SO_2$). *9e Conf. sur les études de la contamination de l'air, Fac. Agriculture de l'Univ. de Nagoya.*

KIRKHAM M. B., GARDNER W. R., GERLOFF G. C., 1974. Internal water status of kinetin-treated, salt-stressed plants. *Plant Physiol.*, **53**, 241-243.

KOHL H. C., RUNDLE D. L., 1972. Decreasing water loss of cut roses with abscisic acid. *Hortscience*, **7**, 3, 249.

KRAMER P. J., 1973. Some reflections after 40 years in plant physiology. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **24**, 1-24.

KRIEDEMANN P. E., LOVEYS B. R., FULLER G. L., LEOPOLD A. C., 1972. Abscisic acid and stomatal regulation. *Plant Physiol.*, **49**, 842-847.

KUDREV T., RADEVA V., 1975. Effect of transpiration rate on the uptake of mineral elements by alfalfa plants. *Fiziol. Rast.* (Sofia), **1**, (3), 54-63.

LAMER V. K., HEALY T. W., 1964. Specification of materials for the retardation of evaporation of water. The spreading of hexadecanol monolayer. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **52**, (3), 680-683.

LAMER V. K., HEALY T. W., 1965. Evaporation of water. Its retardation by monolayers. *Science*, **148**, (3666), 36-41.

LANGE R. F., 1969. Concerning the morphology of isolated plant cuticles. *New Phytol.*, **58**, (2), 423-425.

LEE O. Y., STADELMANN E. J., WEISER C. J., 1972. Influence of decenylsuccinic acid on water permeability of plant cells. *Plant Physiol.*, **50**, 608-615.

LEE K. S., KOZLOWSKI T. T., 1974. Effects of silicone antitranspirant on woody plants. *Plant and Soil*, **40**, (3), 493-510.

LESHAM Y., 1971. Abscisic acid as a ribonuclease promoter. *Physiol. Plant*, **24**, 85-89.

LEVITT J., 1967. The mechanism of stomatal action. *Planta*, **74**, 101-118.
LEVITT J., 1974. The mechanism of stomatal movement. Once more. *Protoplasma*, **82**, 1-17.
LITTLE C. H. A., EIDT D. C., 1968. Effect of abscisic acid on budbreak and transpiration in woody species. *Nature*, **220**, 498-499.
LIVNE A., VAADIA Y., 1965. Stimulation of transpiration in barley leaves by kinetin and gibberellic acid. *Physiol. Plant.*, **16**, 658-664.
LOUGUET P., 1974. Les mécanismes du mouvement des stomates : étude critique des principales théories classiques et modernes et analyse des effets du gaz carbonique sur le mouvement des stomates du *Pelargonium hortorum* à l'obscurité. *Physiol. vég.*, **12**, (1), 53-81.
LOVEYS B. R., KRIEDEMANN P. E., 1974. Internal control of stomatal physiology and photosynthesis. I. Stomatal regulation and associated changes in endogenous levels of abscisic and phaseic acids. *Aust. J. Plant. Physiol.*, **1**, (3), 407-415.
LUKE H. H., FREEMAN T. E., 1968. Stimulation of transpiration by cytokinins. *Nature*, **217**, 873-874.
MANSFIELD T. A., 1967. Stomatal behaviour following treatment with auxin like substances and phenylmercuric acetate. *New Phytol.*, **66**, 325-330.
MANSFIELD T. A., JONES R. J., 1971. Effects of abscisic acid on potassium uptake and starch content of stomatal guard cells. *Planta*, **101**, 147-158.
MARSHALL H., MAKI T. E., 1946. Transpiration of pine seedlings as influenced by foliage coatings. *Plant Physiol.*, **21**, 95-101.
MARTIN J. D., JUNIPER B., 1970. *The cuticles of Plants*. Ed. Arnold Ltd, London, 256 p.
MARTIN J. D., LINK C. B., 1973. Reducing water loss of potted chrysanthemums with presale application of antitranspirants. *J. Amer. Soc. hortic. Sci.*, **98**, 3, 303-306.
MATHUR T., SEN D. N., 1972 *a*. Role of potassium chloride and phenylmercuric acetate on stomatal apertures in isolated epidermal peelings of *Calotripis procera*, R. Br. *Curr. Sci.*, India, **41**, 8, 302-304.
MATHUR T., SEN D. N., 1972 *b*. Interactions of potassium chloride and two antitranspirants on stomatal regulation in isolated leaf epidermal strips of *Tephrosia purpurea* Pers. *Biochem. Physiol. Pflanz.*, **163**, (3), 316-319.
MATHUR T., SEN D. N., 1973. Effect of potassium chloride and phenylmercuric acetate on the ragulation of stomatal opening and water economy in *Tephrosia purpurea* Pers. *Flora*, **162**, 180-190.
MEIDNER H., 1967. The effect of kinetin on stomatal opening and rate of intake of carbon dioxide in mature primary leaves of barley. *J. exp. Bot.*, **18**, 556-561.
MICHNIEWICZ M., ROZEJ B., 1974. Stimulation of transpiration rate in bean plants by ferulic acid. *Naturwissenschaften*, **61**, 1-33.
MIHARA Y., HAGIWARA M., 1960. Evaporation control and transpiration contiol by a multimolecular film of OED emulsion. *Nogyo-Oyabi-Engei*, **35**, 12.
MIHARA Y., 1966. Mise au point et utilisation d'un produit supprimant la transpiration (O.E.D.). *Bull. Ministère Agriculture et des Forêts*; Japon, rapport n° 29.
MISHRA D., PRADHAN G. C., 1968. Delayed wilting of tomato plants by chemical closure of stomata. *Bot. Mag. Tokyo*, **81**, 219-225.
MITTELHEUSER C. T., STEVENINCK R. F. M. VAN, 1969. Stomatal closure and inhibition of transpiration induced by abscisic acid. *Nature*, **221**, 281-282.
MITTELHEUSER C. J., STEVENINCK R. F. M. VAN, 1971. Rapid action of abscisic acid on photosynthesis and stomatal resistance. *Planta*, **97**, 83-86.
MOURAVIEFF I., 1973. Action du dithiotreitol sur l'inhibition de l'ouverture des stomates par le N-éthylmaleimide, l'acide abscissique et le salicylaldoxime en absence de gaz carbonique et à la lumière. *Bull. mens. Soc. Linn.* Lyon, **10**, 268-271.
NEUMANN P. M., 1974. Senescence of attached bean leaves accelerated by sprays of silicone oil antitranspirants. *Plant Physiol.*, **53**, 638-640.
NOWAKOWSKI W., 1973. Action of IAA (3-indoleacetic acid) on transpiration examined during the primary vegetative stage of *Triticum durum* var. « Oued Zenati 368 ». *Bull. Acad. polon. Sci.* Ser. *Sci. biol.*, **21**, (2), 165-169.
OGUNKANMI A. B., TUCKER D. J., MANSFIELD T. A., 1973. An improved bioassay for abscisic acid and other antitranspirants. *New Phytol.*, **72**, 277-282.
OKANENKO A. S., PECHINOR K. N., DEMCHENKO P. A., GOLIK K. N., POGOL'SKAYA V. I., KOTSUR N. V., 1972. Effet des antitranspirants sur l'intensité de la photosynthèse, le rendement et la teneur en sucre de la Betterave sucrière. *Fiziol. Biokhim. Kul't. Rast.* (URSS), **4**, 6, 590-594.

OLOFIN BOBA M. O., 1974. Effects of antitranspirants on distribution and utilization of photosynthate in *Pinus resinosa* seedlings. *Plant and Soil*, **40**, 3, 619-636.

PALIS R. K., PAULSEN G. M., POWERS W. L., 1972-73. Effect of some antitranspiration chemicals on photosynthesis and respiration of corn and soybean seedlings. *Trans. Kans. Acad. Sci.*, **75**, 3, 218-225.

PALLAS J. E., BERTRAND A. R., HARRIS D. G., ELKINS C. B., PARKS C. et L., 1962. Research in plant transpiration. *USDA, Prod. Res. Rep.*, **87**, 56 p.

PALLAS J. E., BERTRAND A. R., 1963. Research in plant transpiration. *USDA, Prod. Res. Rep.*, **89**, 25 p.

PALLAS J. E., BOX J. E., 1970. Explanation for the stomatal response of excised leaves to kinetin. *Nature*, **227**, 87-88.

PALLAS J. E., MOLLENHAUER H. H., 1972. Electron microscopic evidence for plasmodesmata in dicotyledonous guard cells. *Science*, **175**, (4027), 1275-1276.

PASTERNAK D., WILSON G. L., 1971. Some factors responsible for varying effectiveness of stomatal closing antitranspirants. *Aust. J. exp. Agric. anim. Husbs.*, **11**, 48-52.

PEARSON C. J., MILTHORPE F. L., 1974. Structure, carbon dioxide fixation and metabolism of stomata. *Aust. J. Plant. Physiol.*, **1**, 221-236.

PEASLEE D. E., MOSS D. N., 1968. Stomatal conductivities in K-deficient leaves of Maize (*Zea mays* L.). *Crop Sci.*, **8**, (4), 427-430.

POSSINGHAM J. V., KERRIDGE G. H., BOTTRILL D. E., 1969. Studies with antitranspirants on grapevines (*Vitis vinifera* var. *sultana*). *Aust. J. agric. Res.*, **20**, 57-64.

PROKOF'EV A. A., 1974. Regulating role of transpiration in the temperature regime of dry fruits. *Sov. Plant Physiol.*, **21**, (1), 87-90.

RABENSTEINER G., TRANQUILLINI W., 1970. Importance des antitranspirants et des moyens de conservation de la fraîcheur des racines pour la réussite des jeunes plantations. *Allg. Forstztg.*, **81**, (12), 319-320.

RAGHAVENDRA A. S., DAS V. S. R., 1972. Control of stomatal opening by cyclic photophosphorylation. *Curr. Sci.*, **41**, (4), 150-151.

RAGHAVENDRA A. S., RAO I. M., DAS V. S. R., 1976. Characterization of abscisic acid inhibition of stomatal opening in isolated epidermal strips. *Plant Sci. Letters*, **6**, (2), 111-115.

RASCHKE K., 1960. Heat transfer between the plant and the environment. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **11**, 111-126.

RASCHKE K., 1975. Stomatal action. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **26**, 309-340.

RASCHKE K., FELLOWS M. P., 1971. Stomatal movement in *Zea mays* : shuttle of potassium and chloride between guard cells and subsidiary cells. *Planta*, **101**, 296-316.

REDDY V., SRINIVASA, SHAH C. B., 1975. Transpiration behavior water utilization and growth response of hybrid bajra-3 (*Pennisetum typhoides*) to foliar application of phenylmercuric acetate, cycocel and kaolin. *Indian J. exp. Biol.*, **13**, (6), 591-593.

ROBERTSON G. A., GREENWAY H., 1973. Effects of CCC on drought resistance of *Triticum aestivum* L. and *Zea mays* L. *Aust. J. Bot.*, nº 4, 929-934.

SANKHLA N., HUBER W., 1974. Effect of abscisic acid on the activities of photosynthetic enzymes and $^{14}CO_2$ fixation products in leaves of *Pennisetum typhoïdes* seedlings. *Physiol. Plant.*, **30**, 291-294.

SAWHNEY B. L., ZELITCH I., 1969. Direct determination of potassium ion accumulation in guard cells in relation to stomatal opening in light. *Plant Physiol.*, **44**, 1350-1354.

SEN D. N., 1973. Role of monovalent, divalent cations and phenylmercuric acetate in the regulation of stomatal aperture in *Euphorbia nerufolia* L. *Flora*, **162**, 53-60.

SERR E. F., FOOT J. H., 1963. Effects of whitewash cover sprays on Persian walnuts in California. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **82**, 243-249.

SHIMSHI D., 1963*a*. Effect of soil moisture and phenylmercuric acetate upon stomatal aperture, transpiration and photosynthesis. *Plant Physiol.*, **38**, (6), 713-721.

SHIMSHI D., 1963 *b*. Effect of chemical closure of stomata on transpiration in varied soil and atmospheric environments. *Plant Physiol.*, **38**, (6), 709-712.

SHIRLEY H. L., MEULI L. J., 1938. Influence of foliage sprays on drought resistance of conifers. *Plant Physiol.*, **13**, 399-406.

SIVADJIAN J., 1968. Les inhibiteurs chimiques de la transpiration végétale. L'acétate de phénylmercure. *Bull. Soc. bot. Fr.*, **114**, 1-2, 1-4.

SLATYER R. O., BIERHUIZEN J. F., 1964. Transpiration from cotton leaves under a range of environmental conditions in relation to internal and external diffusive resistance. *Aust. J. biol. Sci.*, **17**, 115-130.

Tal M., Imber D., 1970. Abnormal stomatal behaviour and hormonal imbalance flacca, a wilty mutant of tomato. II. Auxin and abscisic acid like activity. *Plant Physiol.*, **46**, 373-376.

Tulloch A. P., 1973. Composition of leaf surface waxes of *Triticum* species : variation with age and tissue. *Phytochemistry*, **12**, 2225-2232.

Uehara Y., Ogawa T., Shibata K., 1975. Effects of abscisic acid and its derivatives on stomatal closing. *Plant and Cell Physiol.*, **16**, 543-564.

van Bavel C. H. M., 1972. Water use efficiency in plant growth and ambiant carbon dioxide level. *U.S. Nat. tech. Inform. Serv.*, PB rep. nº 211281, 115 p.

Van Bavel C. H. M., 1974. Antitranspirant action of carbon dioxide on intact sorghum plants. *Crop Sci.*, **14**, (2), 208-212.

Vieira da Silva J., 1977. Quelques similitudes d'action des agressions par le gel, la sécheresse, la salinité. *Communication au Colloque Soc. Bot. Fr.*, 29 et 30 avril 1977.

Wellburn A. R., Ogunkanmi A. B., Fenton R., Mansfield T. A., 1974. Alltrans-farnesol: a naturally occuring antitranspirant? *Planta*, **120**, 255-263.

Willmer C. M., Mansfield T. A., 1969. Active cation transport and stomatal opening: a possible physiological role of sodium ions. *Z. Pflanzenphysiol.*, **61**, 398-400.

Willmer C. M., Pallas J. E., 1973. A survey of stomatal movements and associated potassium fluxes in the plant Kingdom. *Can. J. Bot.*, **51**, 37-42.

Wilimer C., Kanai R., Pallas J. E. Jr., Black C. C. Jr., 1973. Detection of high levels of phosphoenolpyruvate carboxylase in leaf epidermal tissue and its significance in stomatal movements. *Life Sciences*, **2** (part. II), 151-155.

Wright S. T. C., Hiron R. W. P., 1969. (+) Abscisic acid, the growth inhibitor induced in detached wheat leaves following a period of wilting. *Nature*, **224**, 719-720.

Zabadal T. J., 1974. A water potential threshold for the increase of abscisic acid in leaves. *Plant Physiol.*, **53**, 125-127.

Zelitch I., 1965. Environmental and biochemical control of stomatal movement in leaves. *Biol. Rev.*, **40**, 463-482.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (6), 639-655.

# Étude de quelques facteurs contribuant à la réussite de l'androgénèse par culture d'anthères *in vitro* chez le triticale hexaploïde

Sylvie BERNARD

*Laboratoire d'Amélioration des Plantes*
*Université Paris-Sud, 91400 Orsay*

## Résumé

Nous avons tenté d'analyser quelques facteurs influant sur l'androgénèse *in vitro* chez le Triticale hexaploïde. Ces facteurs (conditions de culture et génotype des plantes-mères, stade de développement de microspores cultivées *in vitro*) agissent sur le nombre de structures pluricellulaires pour cent anthères mises en culture ainsi que sur le niveau d'organisation atteint par ces formations (cal ou embryoïde).

L'obtention de plantules à partir des formations se prête plus difficilement à l'analyse. Elle se heurte encore à deux obstacles : l'absence de développement des cals et d'un certain nombre d'embryoïdes, et le pourcentage encore élevé d'individus albinos.

## I. — Introduction

L'haploïdie suscite un intérêt considérable à des fins de recherche dans des domaines variés (Génétique, Biochimie, Mutagénèse, Cytogénétique), ainsi que pour ses applications à l'amélioration des plantes cultivées, grâce à la possibilité qu'elle offre d'obtenir rapidement des génotypes homozygotes après hybridation.

Chez le Triticale (X *Triticosecale* Wittmack), espèce artificielle issue de croisements Blé × Seigle, l'haploïdisation peut se révéler intéressante à plusieurs niveaux :

1) Elle permettra d'explorer et d'exploiter des croisements entre Triticale d'origines et de caractéristiques différentes : on obtiendra, par culture d'étamines prélevées sur des plantes $F_1$, un reflet de la disjonction $F_2$, à l'état haploïde ou homozygote diploïde. Cette technique, en autorisant la mise en œuvre de tests précoces sur matériel fixé, facilitera la détection des croisements et des génotypes les plus intéressants. Les lignées ainsi créées pourront être utilisées à leur tour comme géniteurs, ce qui n'exclut pas une possibilité de commercialisation pour les meilleures d'entre elles.

2) Dans le cas de croisements interspécifiques, soit entre Triticale de niveaux de ploïdie différents, soit entre Triticale et l'un de ses progéniteurs, on peut envisager la création d'une nouvelle variabilité, en particulier par la fixation de lignées d'addition, de substitution ou de translocations à l'état homozygote.

Après le succès de l'androgénèse *in vitro* chez diverses graminées, et plus particulièrement chez le Blé tendre (PICARD et DE BUYSER 1973, OUYANG *et al.*, 1973), le Seigle (WENZEL et THOMAS, 1974) et le Triticale octoploïde (WANG *et al.* 1973), nous avons réalisé l'androgénèse chez le Triticale hexaploïde. C'est en effet à ce niveau de ploïdie que sont obtenues actuellement les lignées qui présentent les meilleures performances sur le plan de la productivité.

Nous avons rapporté dans une précédente publication les premiers résultats de nos expériences de culture d'anthères chez cette espèce (BERNARD *et al*, 1976). Nous avons montré la possibilité d'obtenir, par cette voie, des cals et des embryoïdes à des fréquences élevées, à partir desquels nous avons régénéré des plantes haploïdes, albinos et chlorophylliennes.

Dans la présente publication, nous tentons de préciser les facteurs de l'androgénèse *in vitro* chez cette espèce, et nous rapportons ici les résultats obtenus sur les descendances de douze croisements.

## II. — Matériel et méthodes

### a) *Matériel*

Le matériel végétal, fourni par la Station d'Amélioration des Plantes I.N.R.A. de Clermont-Ferrand, est constitué de deux lignées hexaploïdes $F_7$ nº 532[T 204 (8*x*) × T 847 (6*x*)] et nº 534 [T 272 (8*x*) × T 847 (6*x*)], et de 10 populations $F_2$ faisant intervenir les lignées hexaploïdes suivantes :

3 lignées américaines (JENKINS) T 845, T 847, T 861.
1 lignée espagnole (SANCHEZ-MONGE) T 863.
1 lignée canadienne (EVANS) T 949.
5 lignées I.N.R.A. nº 531, 532, 533, 534, 538, issues de croisements entre Triticale 8*x* primaires et diverses lignées hexaploïdes étrangères.
1 lignée I.N.R.A. obtenue dans la descendance du croisement entre T 847 et le Blé tendre « Courtot ».

Les descendances $F_2$ utilisées dans notre programme figurent au tableau 1.

### b) *Conditions de culture des plantes-mères*

Les plantes sont cultivées en serre chauffée, en conditions de jours longs (photopériode 16 heures), avec apport de lumière au cours de l'hiver et du printemps.

### c) *Culture* in vitro

En fonction des résultats d'essais antérieurs, nous prélevons sur ces plantes les épis dont les fleurs de rang 1 contiennent des microspores uninucléées, sauf mention contraire dans le texte. Ces épis sont stockés au froid, et les étamines sont

TABLEAU I

*Généalogie des descendances $F_2$ utilisées pour les expériences*

| Parent ♀ \ Parent ♂ | T 531 | T 532 | T 538 | T 634 | T 861 |
|---|---|---|---|---|---|
| T 531 | | $H_1$ | $H_2$ | $H_7$ | |
| T 532 | | | $H_8$ | $H_9$ | |
| T 533 | | | | $H_{10}$ | $H_{11}$ |
| T 534 | $H_{12}$ | | | | |
| T 863 | | | | $H_{14}$ | |
| T 949 | | $H_{13}$ | | | |

mises en culture dans les mêmes conditions que celles mentionnées précédemment (BERNARD *et al*, 1976).

Le milieu de culture des étamines utilisé ici est le milieu $M_1$, caractérisé par une forte concentration en saccharose (12 p. cent) et la présence de 2, 4-D. Les 4 milieux de régénération en diffèrent par leur teneur en saccharose ramenée à 2 p. cent et le remplacement du 2, 4-D par d'autres substances de croissance. La composition détaillée de ces différents milieux est donnée en annexe.

Après mise en culture, les étamines sont maintenues à une température de 27 °C ± 1 °C et éclairées de façon continue; les formations transférées sur milieu de régénération sont soumises à une photopériode de 16 heures dans les mêmes conditions de température.

### d) *Repiquage des plantes obtenues*

Les plantules bien développées, pourvues d'un système radiculaire suffisant, sont repiquées en pots et maintenues en atmosphère humide.

## III. — Résultats

### A. — *Première étape : obtention des cals et des embryoïdes*

1. — *Délai et durée d'apparition :*

Les premiers cals et embryoïdes apparaissent entre la quatrième et la sixième semaine après la mise en culture, et leur production s'étale quelquefois jusqu'à la onzième semaine.

2. — *Description des formations obtenues :*

Les microspores mises en culture au stade uniculéé se divisent et donnent naissance à des massifs cellulaires qui percent la paroi de l'anthère ou sortent par la fente de déhiscence. Ces massifs se présentent essentiellement sous deux formes : cals typiques, blanchâtres, d'aspect plus ou moins spongieux, constitués de grandes

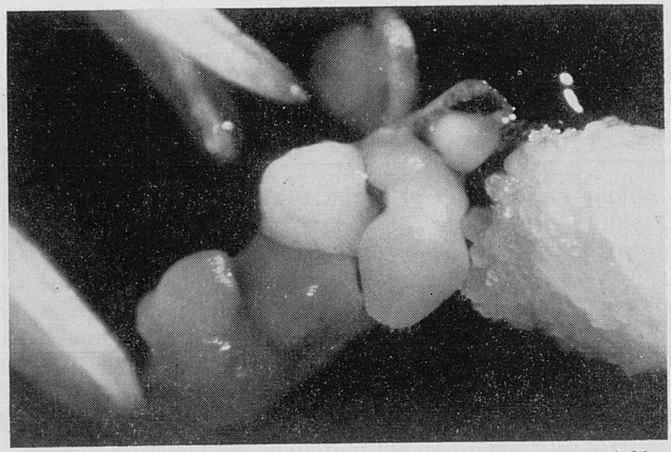


Fig. 1. — *Anthère présentant cinq embryoïdes de formes variables, mais compacts et lisses, et un gros cal friable à surface irrégulière.*

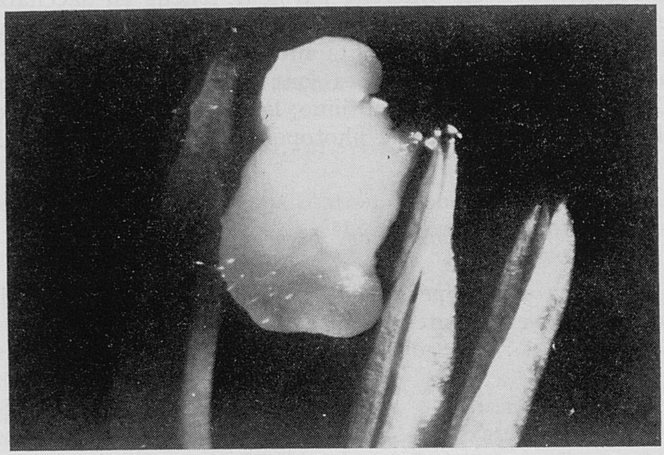


Fig. 2. — *Embryoïde montrant des poils épidermiques à l'un des pôles.*

cellules (fig. 1), et embryoïdes, petites masses compactes de formes variées : rondes, ovoïdes, piriformes, bosselées, à la surface desquelles on distingue nettement, à la loupe binoculaire, un épiderme (fig. 1 et 2). Leur couleur varie du blanc ou jaune verdâtre. Mais on observe également des structures intermédiaires entre celles qui viennent d'être décrites (fig. 3).

La taille de ces néoformations est très variable : une semaine après leur sortie de l'anthère, certains embryoïdes peuvent dépasser la taille de l'anthère qui leur a donné naissance.

### 3. — *Rendement du phénomène* :

Le rendement, exprimé en nombre de formations pour 100 anthères mises en culture, est extrêmement variable suivant les génotypes utilisés et les conditions

expérimentales : il peut varier dans des proportions de un à trente. Il apparaît comme le produit de deux composantes : le pourcentage d'anthères embryogènes et le nombre moyen de formations par anthère embryogène.

4. — *Facteurs influant sur la production des formations haploïdes*

La production des massifs issus de l'anthère, c'est-à-dire le rendement d'une part, et le niveau d'organisation d'autre part, sont sous la dépendance de plusieurs facteurs parmi lesquels nous avons pu dégager les suivants :

*a) Conditions de culture des plantes-mères :* le tableau 2 et la figure 4 montrent un accroissement très sensible du rendement en cals et embryoïdes au fur et à mesure que s'améliorent, au cours de la saison, les conditions de température et d'éclairement. En outre, il apparaît que la proportion relative des cals et embryoïdes se modifie en faveur de ces derniers. Les facteurs physiques (température, durée d'éclairement, intensité lumineuse, hygrométrie) qui agissent pendant la crois-



FIG. 3. — *On remarque à droite du cliché une formation dont une partie a la structure « embryoïde », et dont l'autre a celle d'un cal peu compact, à cellules gonflées d'eau, formant une gelée. Noter également le grand nombre de formations issues de l'anthère, et répandues à la surface du milieu de culture.*

TABLEAU 2

| | Nombre d'anthères | Nombre de cals obtenus | % moyen de cals par anthère |
|---|---|---|---|
| Janvier | 1 400 | 3 | 0,21 ± 0,24 |
| Février I | 2 350 | 11 | 0,47 ± 0,28 |
| Février II | 550 | 8 | 1,45 ± 1 |
| Mars I | 3 835 | 23 | 0,6 ± 0,2 |
| Mars II | 7 750 | 374 | 4,83 ± 0,48 |
| Avril I | 3 690 | 534 | 14,47 ± 1,13 |

sance et le développement des plantes-mères jouent donc un rôle considérable sur l'aptitude embryogène des anthères en culture.

*b) Rôle de l'enveloppe formée par l'anthère :* on peut se demander si, comme chez le Tabac (PELLETIER et ILAMI, 1972), l'enveloppe formée, par l'anthère ne joue pas un rôle dans le développement des microspores en embryoïdes. En effet, pour un même stade de développement des microspores qu'elles contiennent, certaines anthères sont embryogènes tandis que d'autres ne le sont pas. En outre,

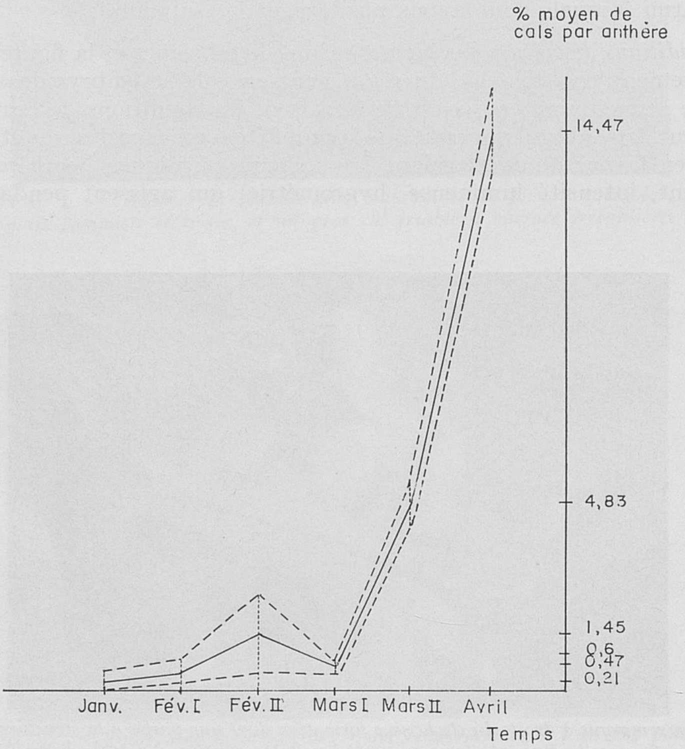



FIG. 4. — *Pourcentage moyen de cals par anthère au cours de la saison.*

le nombre de massifs cellulaires individualisables qui apparaissent dans les anthères embryogènes est très variable : de 1 à 25 (tabl. 3, fig. 3). La distribution du nombre de formations par anthère embryogène n'est à l'évidence pas ajustable à une loi de Poisson ($m = 3{,}02$; $s^2 = 16{,}47$). Ceci suggère que le passage de l'état « microspore » à l'état « structure pluricellulaire » ne résulte pas seulement d'un événement aléatoire au niveau de la microspore.

*c) Stade de mise en culture :* le stade de développement des microspores au moment de la mise en culture conditionne, comme pour d'autres matériels, leur évolution ultérieure (NITSCH et NITSCH, 1969; BERNARD, 1971; SUNDERLAND, 1971). Le tableau 4 montre que le stade II « microspores uninucléées » est très nettement le plus favorable à l'embryogénèse. Si l'on met en culture des étamines

plus jeunes (stade I), on observe surtout la prolifération de cals au niveau de la section du filet des étamines, et qui peuvent devenir très nombreux et développer un chevelu de racines. Avec des étamines plus âgées (stade III), le taux de réussite de l'androgénèse est très faible. Les anthères dégénèrent le plus souvent.

On peut également observer des différences dans l'aptitude embryogène en fonction du gradient de maturité à l'intérieur de l'épillet (tabl. 5). En passant des fleurs les plus âgées (prélevées au stade II) aux plus jeunes, on remarque une

TABLEAU 3

*Distribution du nombre de cals par anthère embryogène*

| Nombre de cals par anthère | Nombre d'anthères | |
|---|---|---|
| 1 | 162 | |
| 2 | 45 | |
| 3 | 15 | |
| 4 | 10 | |
| 5 | 6 | |
| 6 | 5 | |
| 7 | 7 | |
| 8 | 7 | |
| 9 | 6 | |
| 10 | 6 | |
| 11 | 3 | |
| 12 | 2 | Moyenne : 3,022 |
| 13 | 0 | |
| 14 | 0 | Variance : 16,47 |
| 15 | 0 | |
| 16 | 1 | |
| 17 | 1 | |
| 18 | 0 | |
| 19 | 1 | |
| 20 | 3 | |
| 21 | 1 | |
| 22 | 0 | |
| 23 | 0 | |
| 24 | 1 | |
| 25 | 1 | |

diminution du nombre de massifs cellulaires en même temps qu'une chute du nombre d'embryoïdes par rapport au nombre de formations apparues.

*d*) *Génotype des plantes-mères:* le tableau 6 présente les résultats obtenus sur dix descendances $F_2$ et deux lignées à la génération $F_7$. Dans cette expérience, les étamines ont été prélevées sur une période d'un mois, dans les conditions les plus favorables. On constate que le génotype des plantes-mères influence considérablement le rendement, qui ne dépasse guère 1 dans le cas de la lignée « 532 » mais avoisine 30 pour la descendance $F_2$ « $H_8$ ».

Un test $\chi^2$ confirme que les diverses populations $F_2$ ne sont pas également aptes à produire des cals et des embryoïdes. On note que le rendement de chacune des deux lignées $F_7$ testées est inférieur à celui de la $F_2$ la moins productive.

TABLEAU 4

*Influence du stade de développement des microspores au moment de la mise en culture - Descendance $F_2$ n° « $H_8$ »*

| | Stade de développement des microspores des fleurs de rang 1 | I Compris entre « tétrades » et « microspores jeunes (exine et pore pollinique non formés - noyau central) » | II Microspores uni-nucléées (pore et exine formés- vacuole visible- noyau excentré) | III Compris entre « mitose pollinique » et « grains de pollen binucléés » |
|---|---|---|---|---|
| | Nombre d'anthères mises en culture . . . . . . . . . . | 1 869 | 2 694 | 2 598 |
| | Nombre d'épis. . . . . . . . . | 25 | 34 | 33 |
| | Nombre moyen d'anthères par épi | 74,76 | 79,24 | 78,12 |
| cals de filet | Nombre total . . . . . | 221 | 57 | 4 |
| cals de filet | Nombre moyen pour 100 anthères mises en culture | **11,82** | 2,12 | 0,15 |
| Formations issues d'anthères | Nombre total . . . . . | 23 | 593 | 15 |
| Formations issues d'anthères | Nombre moyen pour 100 anthères mises en culture | 1,23 | **22,01** | 0,58 |

De plus, les différences entre génotypes sont sensibles aussi bien au niveau du pourcentage d'anthères embryogènes que du nombre moyen de formations par anthère. On remarque enfin une forte corrélation entre ces deux composantes ($r = +$ 0,81, H.S.).

B. — *Deuxième étape : régénération de plantules*

Le milieu $M_1$ ne permet pas la régénération directe des néoformations en plantules : il est nécessaire de les repiquer sur un milieu différent (noté R), dépourvu de 2, 4-D. Ceci est en accord avec la plupart des auteurs qui reconnaissent un rôle néfaste à cette molécule sur les processus de morphogénèse.

Les premières expériences sur milieu $R_1$ (utilisé pour le Blé) ont donné des résultats négatifs dans nos conditions expérimentales. Quelques formations ont émis une racine, mais nous n'avons observé aucune caulogénèse.

TABLEAU 5

*Répartition des cals et embryoïdes dans un épi d'une descendance $F_2$, mis en culture au stade II pour les fleurs de rang I. Observation après 6 semaines de culture* in vitro

| N° d'ordre de la fleur \ Rang de l'épillet | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | Nombre de massifs cellulaires | Nombre d'embryoïdes | % d'embryoïdes |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 . . . . . . . . . . . . . | | | | | | 1ε | | 9ε | 4ε | 4c | 6c | 1ε | 1ε | | | 2ε | 1ε | 3ε | 2ε | 1c | 1c | | 36 | 24 | 66.6 |
| 2 . . . . . . . . . . . . . | | | | | | | 3ε | | | 2c | | | 2c | | 2c | | 1c | 1c | 2ε | 2ε | 3c | | 18 | 7 | 25.7 |
| 3 . . . . . . . . . . . . . | | | | | | 3c | | | | 1c | | | | | | | 1c | | | | | | 5 | 0 | 0 |

c = cal.
ε = embryoïde.

TABLEAU 6

*Influence du génotype des plantes-mères sur l'androgénèse* in vitro *du Triticale*

| Origine génétique | $H_8$ | $H_{10}$ | $H_{11}$ | $H_7$ | $H_9$ | $H_{14}$ | $H_1$ | $H_{13}$ | $H_2$ | $H_{12}$ | 534 | 532 | $\sum H$ | $\sum L$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nombre d'anthères mises en culture | 935 | 1 740 | 1 405 | 1 920 | 1 265 | 1 375 | 615 | 245 | 105 | 1 835 | 385 | 935 | 11 440 | 1 320 |
| Nombre de formations observées | 277 | 195 | 126 | 121 | 70 | 64 | 17 | 5 | 2 | 31 | 6 | 10 | 908 | 16 |
| Nombre d'anthères embryogènes . | 40 | 54 | 32 | 40 | 29 | 29 | 8 | 4 | 2 | 21 | 6 | 7 | 259 | 13 |
| % d'anthères embryogènes . . . . | 4,28 | 3,10 | 2,28 | 2,08 | 2,29 | 2,11 | 1,30 | 1,63 | 1,90 | 1,14 | 1,56 | 0,75 | 2,26 | 0,98 |
| Nombre moyen de formations par anthère embryogène . . . . . . | 6,92 | 3,61 | 3,94 | 3,00 | 2,41 | 2,21 | 2,13 | 1,25 | 1,00 | 1,47 | 1,00 | 1,43 | 3,51 | 1,23 |
| Rendement = nb moyen de formations pour 100 anthères mises en culture. . . . . . . . . . . . . | 29,63 | 11,21 | 8,97 | 6,30 | 5,53 | 4,65 | 2,76 | 2,04 | 1,90 | 1,69 | 1,56 | 1,07 | 7,94 | 1,10 |

Grâce à l'obtention de nombreux cals et embryoïdes, nous avons pu tester trois milieux plus complexes, en comparaison avec le milieu $R_1$. Sur les quatre milieux, certains implants ont montré un verdissement, accompagné parfois d'une ébauche de morphogénèse (fig. 5) : il s'agissait uniquement d'embryoïdes, tandis que les cals émettaient des racines dans le meilleur des cas (fig. 6), et le plus souvent n'évoluaient pas et se nécrosaient.

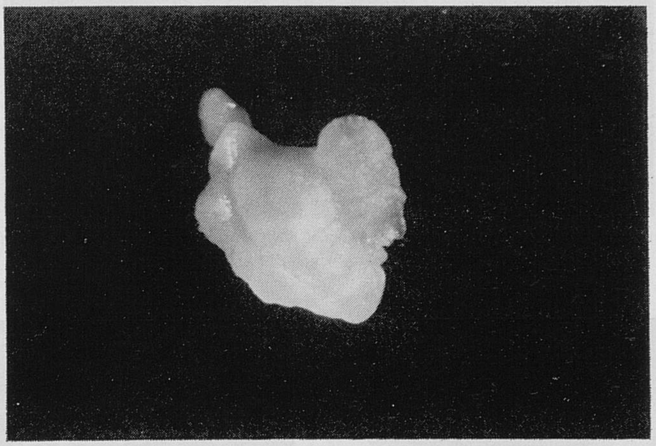


FIG. 5. — *Jeune ébauche de morphogénèse caulinaire à partir d'un embryoïde*



FIG. 6. — *Embryoïde présentant de nombreuses racines en cours de développement.*

Cependant, les ébauches morphogènes montrèrent fréquemment un aspect anormal (fig. 7) (feuilles enroulées ou en éventail), probablement dû à l'action des substances de croissance entrant dans la composition des milieux. Nous avons alors repiqué individuellement les plantules en cours de développement sur le milieu $R_1$, ne contenant que de l'AIA, facilement métabolisé par les tissus. Seul le milieu $R_2$ a permis le développement direct de deux plantules chlorophylliennes

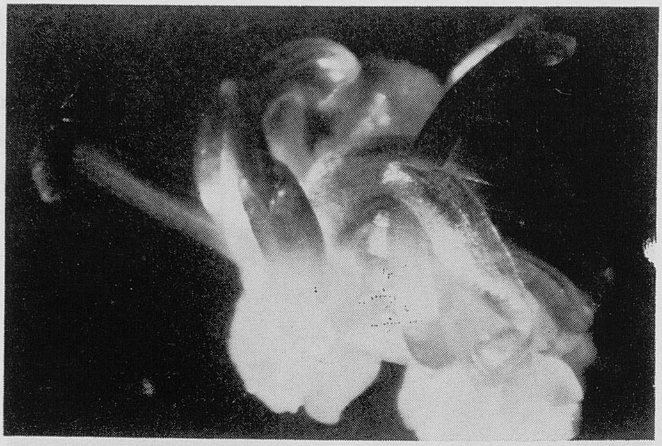


FIG. 7. — *Début de régénération d'aspect anormal : on remarque que les ébauches foliaires sont en très grand nombre, et fréquemment enroulées sur elles-mêmes.*

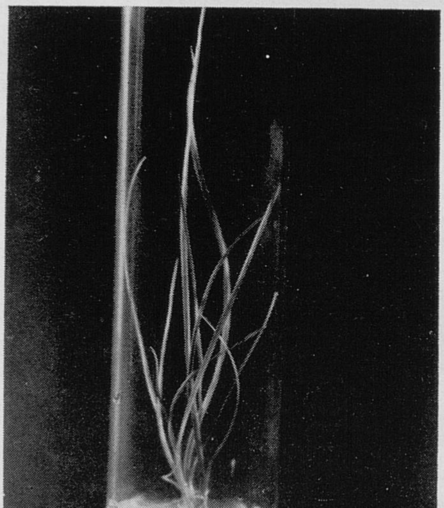


FIG. 8. — *Plantule chlorophyllienne haploïde.*

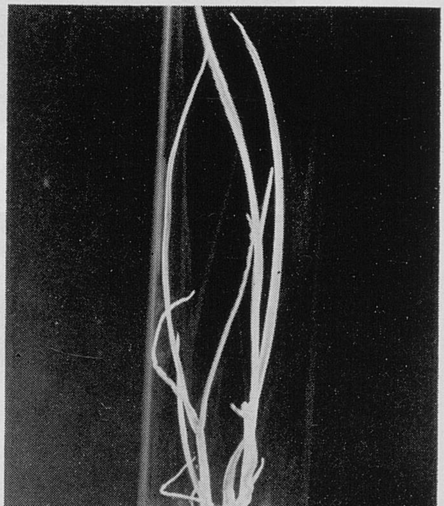


FIG. 9. — *Plantule albinos haploïde.*

(fig. 8). C'est également celui qui a fourni les performances les plus intéressantes (12 p. cent de régénération). Les diverses formes obtenues sur les milieux $R_1$ à $R_4$ sont présentées dans le tableau 7. Le tableau 8 résume le nombre de plantules obtenues après un dernier repiquage sur $R_1$ : on remarque en particulier que, sur 32 plantules obtenues, 14 sont albinos (fig. 9). Ces dernières paraissent plus vigoureuses que les plantes chlorophylliennes, et présentent souvent un meilleur tallage.

TABLEAU 7

*Résultats du repiquage des cals et embryoïdes sur différents milieux en boîte de Petri.*
(Les formations issues d'un même épi ont été, dans la mesure du possible, réparties également sur les 4 milieux)

| | Nombre total de formations repiquées | Formations non développées ou nécrosées | Grossies blanches ou jaunâtres | | Verdies | | Ébauches de morphogénèse | | Plantules albinos | Plantules chlorophylliennes | Nombre de formations présentant un début de dév[t] | % de formations présentant un début de dév[t] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | sans racine | avec racines | sans racine | avec racines | sans racine | avec racines | | | | |
| Milieu $R_1$ (témoin) . . . | 92 | 68 | 11 | 3 | 1 | 8 | | 1 | 1 | — | 24 | 26 |
| Milieu $R_2$ . . . . . . . . | 154 | 122 | — | 2 | 2 | 16 | 3 | 5 | 4 | 2 | 32 | 20,8 |
| Milieu $R_3$ . . . . . . . . | 127 | 119 | 1 | 2 | — | 1 | 1 | 3 | — | — | 8 | 6,3 |
| Milieu $R_4$ . . . . . . . . | 131 | 120 | 6 | — | — | 1 | — | 3 | 1 | — | 11 | 8 |
| Total . . . . . . . . . | 504 | 429 | 18 | 7 | 3 | 26 | 4 | 12 | 6 | 2 | 75 | 14,8 |

TABLEAU 8

*Nombre de plantules albinos et chlorophylliennes obtenues après le transfert sur milieu $R_1$, en fonction du milieu de culture précédent.*

| Milieu de repiquage précédent | $R_1$ | $R_2$ | $R_3$ | $R_4$ | Total |
|---|---|---|---|---|---|
| Nombre de formations . . | 92 | 154 | 127 | 131 | 504 |
| Nombre de plantules chlorophylliennes . . . . . | 0 | 11 | 6 | 1 | 18 |
| Nombre de plantules albinos . . . . . . . . | 1 | 8 | 2 | 3 | 14 |
| Total des plantules . . . | 1 | 19 | 8 | 4 | 32 |

Il convient de souligner le rôle essentiel de la période qui s'écoule entre l'apparition des néoformations et un repiquage sur un nouveau milieu : de sa durée dépend manifestement le degré de réussite de la régénération. Le pouvoir morphogène des embryoïdes semble maximal dans la semaine qui suit leur apparition hors de la loge pollinique.

## IV. — Discussion

La présente étude confirme les résultats que nous avions rapportés dans une précédente publication. Si l'on compare les résultats obtenus par culture d'anthère du Triticale avec ceux de ses progéniteurs, on relève des points communs en ce qui concerne le déroulement du processus en général, l'aspect et le comportement des formations obtenues. Mais il existe aussi des différences : en particulier, l'apparition des massifs cellulaires est moins précoce que chez le Blé, mais le phénomène plus étalé dans le temps et le rendement plus élevé. A cet égard, nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par les Chinois sur Triticale octoploïde. Ces différences de comportement pourraient s'expliquer par la structure hybride du Triticale. La constatation que toutes les populations $F_2$ testées se sont révélées supérieures aux deux lignées va dans le même sens.

D'une manière générale, la vigueur de la plante, qu'elle soit due à sa structure génétique ou à la réalisation d'un bon état physiologique — à la suite de l'optimisation des conditions de milieu — semble être un facteur déterminant dans la réussite de l'androgénèse. En particulier, elle influe sur le niveau d'organisation des productions de l'anthère, ce qui conditionne l'obtention des plantes haploïdes, puisque seuls les embryoïdes sont capables d'une morphogénèse.

Néanmoins, il semble que la régénération des plantes haploïdes à partir des formations soit moins facile que chez le Blé, d'où la nécessité de mettre au point des conditions de régénération mieux adaptées. Enfin, l'albinisme, phénomène quasi général dans la culture d'anthères de graminées, est aussi un problème important, à la fois théorique et pratique, dans la mesure où il diminue d'environ

50 p. cent le rendement utile de la régénération; d'autres auteurs (ONO et LARTER, 1976) n'ont obtenu, à partir de Triticale hexaploïdes américains, que quelques plantules, toutes albinos.

L'amélioration du rendement global de l'androgénèse chez le Triticale est essentiellement fonction des progrès qui seront réalisés au niveau de la régénération, par l'augmentation de la proportion de plantules obtenues et la diminution de la fréquence d'albinos. Cet objectif nous conduit à porter nos efforts sur deux points :

— Dès l'obtention des formations haploïdes, il faut tenter d'augmenter la proportion d'embryoïdes;

— Au cours du processus de régénération lui-même : la réussite du phénomène morphogénétique est fonction de l'évolution des embryoïdes. Le milieu et les conditions de culture, le délai entre l'apparition des formations et leur repiquage, le nombre de repiquages sur des milieux se rapprochant des conditions de culture en terre, sont des éléments à prendre en considération.

## V. — Conclusion

L'obtention de plantes haploïdes par culture d'anthères chez le Triticale comme chez les autres Graminées, passe actuellement par deux étapes :

— l'obtention de cals et d'embryoïdes sur un premier milieu de culture,

— la régénération de plantules sur un milieu modifié.

L'obtention des néoformations à partir des microspores, bien que soumise à des influences de plusieurs ordres, est relativement aisée, et d'un rendement qui peut être très élevé chez certains génotypes.

La régénération n'est pour l'instant pas entièrement maîtrisée, puisque de nombreux embryoïdes n'évoluent pas en plantules, et que le rendement est diminué par une forte proportion d'albinos. Mais si elle apparaît comme l'étape la plus difficile, elle est probablement aussi la plus perfectible.

De nouvelles expériences vont nous permettre de tester un certain nombre d'hypothèses concernant les facteurs influant sur la facilité de régénération.

*Reçu pour publication en septembre 1976.*

## Remerciements

Je tiens à remercier la Station d'Amélioration des Plantes de Clermont-Ferrand de l'accueil qu'elle m'a réservé lors de la réalisation de ce travail.

## Summary

*Study of some factors controlling* in vitro *androgenesis of hexaploid Triticale*

After having successfully performed *in vitro* androgenesis of hexaploid Triticale (Wheat x Rye hybrid), we report here the determination of some of the factors controlling this process. The results were obtained from the progenies of 12 crosses, two $F_7$ lines and ten $F_2$ populations.

1. — *Production of multicellular structures*

The cell masses produced from anthers are mainly of two types: non-organized calluses, and compact embryoids with an epidermis. The yield varies considerably, (from one to thirty masses p. cent anthers sown), according to the genotypes used and the experimental conditions. These factors also influence the relative proportion of calluses and embryoids.

• Improvement of lighting and temperature conditions of the green-house in which the mother-plants are grown gives a marked increase in total yield, and in addition relatively more embryoids than calluses.

• At a given stage of microspore development, certain anthers are embryogenic, others are not. Further, the number of separable cell masses per embryogenic anther is extremely variable: from one to twenty-five. The distribution does not agree with that of Poisson: this suggests that the change from a microspore to a multicellular structure does not result from a random event only in the microspore.

• The uninucleate microspore stage is clearly the most favorable for androgenesis in our experimental conditions, concerning both the number of cell masses and their aspect, that is the level of organization they show.

• The ten $F_2$ populations tested show significantly different aptitudes for *in vitro* androgenesis. The two $F_7$ lines have poorer performances than the least productive $F_2$ population. These differences were observed for the two components of yield, i.e. the percentage of embryogenic anthers and the mean number of cell masses per embryogenic anther; these two components are highly correlated ($r = + 0{,}81$).

The yield of this step of androgenesis in Triticale is greater than those reported by other workers in wheat and rye. This could be related to the hybrid structure of Triticale. The better performance of the $F_2$ populations tested than those of the $F_7$ lines also suggests that hybridity is favorable to androgenesis. More generally, mother-plant vigor, due to genetic structure and physiological state, appears to be a factor determining the success of androgenesis, both from quantitative and qualitative points of view.

2. — *Seedling development*

Only some embryoids are capable of bud formation; the calluses may produce roots, but most often they degenerate. Different culture media have been tried. One of them gave rise to various morphogenic types, green or albino, showing root formation with or without accompanying caulogenesis, and occasionnally giving complete seedling development.

Other experiments are in progress, to determine the best conditions for regeneration, and so enable an increase in the proportion of embryoids capable of developing into seedlings, and a reduction in the frequency of albinos among them, which is at present up to fifty per cent.

## Références bibliographiques

BERNARD S., 1971. Développement d'embryons haploïdes à partir d'anthères cultivées *in vitro*. Étude cytologique comparée chez le Tabac et le Pétunia *Rev. Cytol. Biol. vég.* **34**, 165-188.

BERNARD S., PICARD E., DE BUYSER J., 1976. Obtention de plantes haploïdes de *Triticale* hexaploïdes (× *Triticosecale* Wittmack) par culture *in vitro* d'anthères. *C. R. Acad. Sci.* (série D, **238**, 235-238.

NITSCH J. P., NITSCH C., 1969. Haploid plants from pollen grains. *Science*, N. Y., **163**, 85-87.

ONO H., LARTER E. N., 1976. Anther culture of Triticale. *Crop Sci.*, **16**, 120-122.

OUYANG T. W. *et al.*, 1973. Induction of pollen plants from anthers of *Triticum aestivum L.* cultured *in vitro*. *Scienta Sinica*, **16**, 79-90.

PELLETIER G., ILAMI L., 1972. Les facteurs de l'androgénèse *in vitro* chez *Nicotiana tabacum*. (*Z. Pflanzenphysiol.* **68**, 97-114.

PICARD E., DE BUYSER, J. 1973. Obtention de plantules haploïdes de *Triticum aestivum L.* à partir de culture d'anthères *in vitro*. *C. R. Acad. Sci.*, série D, **277**, 1 463-1 466.

SUNDERLAND N., 1971. Anther culture: a progress report. *Sci. Prog.*, (Oxf). **59**, 527-549.

WANG Y. *et al.*, 1973. The induction of the pollen plantlets of *Triticale* and *Capsicum annuum* from anther culture. *Scienta sinica :* **16**, 147-151.

WENZEL G., THOMAS E., 1974. Observations on the growth in culture of anthers of *Secale cereale*. *Z. Pflanzenzüchtung*, **72**, 89-94.

---

## Annexe

---

*Milieux de culture*

(le PH est ajusté dans tous les cas à 5,9)

*Milieu de base = M.B.:*

— macro éléments de Miller,
— micro éléments de Miller,
— fer EDTA $10^{-}$ M,
— vitamines de Fuji,
— glycine $2.10^{-6}$.

*Milieu de culture des anthères:*

— M. B. + 2,4D.$2.10^{-6}$,
+ saccharose 12 p. cent,
+ agar 0,5 p. cent.

*Milieu de repiquage des cals et embryoïdes haploïdes:*

R 1 = M. B. + sacch. 2 p. cent + agar 0,5 p. cent = milieu Blé (E. PICARD et
+ A.I.A. $10^{-6}$. J. DE BUYSER).

R 2 = M. B. + sacch. 2 p. cent + agar 0,5 p. cent.
+ A.I.A. $5.10^{-7}$,
+ A.N.A. $2.10^{-7}$,
+ kinétine $10^{-6}$.

R 3 = M. B. + sacch. 2 p. cent + agar 0,5 p. cent,
+ A.I.A. $2.10^{-6}$,
+ kinétine $5.10^{-6}$.

R 4 = R 1 + kinétine $5.10^{-6}$.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (6), 657-673.

# Initiation de cals *in vitro* à partir de fragments de mésocotyle et de coléoptile chez le Maïs

Elisabeth VUILLAUME et A. DESHAYES

*Laboratoire de Mutagenèse,*
*Station d'Amélioration des Plantes,*
*Centre de Recherches de Dijon, I.N.R.A.,*
*B.V. 1540. 21034 Dijon Cedex.*

## Résumé

L'initiation de cals chez le Maïs est étudiée sur les lignées $F_7T$ et $F_7N$ et sur l'hybride $F_7T \times F_{71}$. Cette étude porte sur la réponse de différents types de tissus à la mise en culture et sur les effets des composés organiques du milieu.

Les explants mis en culture sont soit des fragments d'apex prélevés sur plantes cultivées en serre, au stade 6-7 feuilles, soit des fragments de mésocotyle ou de coléoptile prélevés sur des jeunes pousses issues d'une germination à la lumière ou à l'obscurité pendant 8 jours. La grande quantité de phénols diffusant dans le milieu à partir des fragments d'apex inhibe la prolifération des cals initiés. Pour les fragments de jeunes pousses, ce phénomène n'apparaît pas, mais on observe que l'initiation est meilleure si la germination s'est faite à la lumière et dans ce cas le mésocotyle est moins callogène que la coléoptile.

Les composés du milieu, étudiés par un plan factoriel incomplet sont le 2-4 D la kinétine, la thiamine, un groupe de vitamines B et les acides aminés suivants : glutamine, glycine et asparagine. Leurs effets sur la callogenèse sont mesurés à la fois sur l'induction et sur l'importance de celle-ci, pour les fragments de mésocotyle et de coléoptile mis en culture.

Les résultats obtenus en présence de kinétine n'entrent pas dans l'analyse car, quels que soient les génotypes et les autres facteurs organiques du milieu, si la présence de kinétine (à 0,2 mg /l) n'empêche pas l'initiation de cals, celle-ci est très rapidement suivie d'une redifférenciation sous forme de racines. Pour les autres facteurs du milieu, on constate que leur effet varie fortement en fonction du génotype. Toutefois, il semble bien qu'il existe un effet cytoplasme pour certains de ces facteurs (l'hybride et la lignée $F_7T$ ont le même cytoplasme Texas). Enfin, on observe que l'hybride initie en plus grande quantité et donne des cals ayant une croissance plus rapide et un aspect plus homogène, quelque soit le milieu.

## Introduction

Le grave dommage causé par l'épidémie d'*Helminthosporium maydis* race T, qui attaque spécifiquement le cytoplasme Texas (Tatum, 1971) a rendu nécessaire la recherche d'un cytoplasme qui conserverait la stérilité mâle mais qui possèderait

la résistance au champignon. Deux voies ont été, jusqu'à présent, utilisées; l'une par mutagenèse sur plante (CORNU *et al.*, 1977) et l'autre par mutagenèse *in vitro* (GENGENBACH et GREEN, 1975).

L'établissement de culture *in vitro* de maïs fait l'objet depuis 1972, de nombreux travaux. SHERIDAN (1972), BURR et NELSON (1972), GREEN, PHILLIPS et KLEESE (1974), PERSON et HORNER (1976) ont cherché à déterminer les milieux de culture permettant l'initiation de cals de maïs à partir principalement d'embryon et/ou d'apex. Jusqu'à présent, seuls GREEN et PHILLIPS (1975) sont parvenus à régénérer des plantes, porteuses ou non du cytoplasme Texas, à partir de cals. L'aptitude à la régénération semble limitée à un tissu d'origine, le scutellum, et elle demeure actuellement un phénomène aléatoire. La maîtrise des conditions de culture et de régénération n'est donc pas encore atteinte.

Notre objectif étant d'obtenir par mutagenèse sur cellules isolées des plantes résistantes à *Helminthosporium maydis* race T, il nous fallait maîtriser les techniques de culture *in vitro* et de régénération. Nous précisons ici les conditions d'initiation de cals à la fois en ce qui concerne la nature des tissus prélevés et le rôle des différents constituants du milieu.

## Matériel et méthodes

Les génotypes mis en culture sont : 1) la lignée $F_7N$ mâle fertile, 2) la lignée $F_7T$ isogénique de la précédente, mais possédant le cytoplasme Texas, 3) l'hybride restauré pour la fertilité pollinique, $F_7T \times F_{71}$.

### 1. — *Nature des tissus mis en culture.*

Des apex ont été prélevés sur des plantes de 6 à 8 feuilles, cultivées en pots. Les fragments mis en culture sont soit des apex entiers, soit des apex fractionnés longitudinalement ou transversalement.

Des graines désinfectées pendant 20 minutes à l'hypochlorite de calcium à 7 p. cent puis rincées sont mises à germer en condition stérile sur milieu solide ne contenant que de l'agar à 8 g/l. Une partie des graines est placée à l'obscurité à 25 °C, l'autre à la lumière 16 heures par jour à 27 °C. Huit jours après la germination, on met en culture des fragments de mésocotyle et des fragments de coléoptile Les graines germées à l'obscurité donnent des plantes étiolées présentant une forte élongation du mésocotyle, environ 8 à 10 centimètres, alors que le mésocotyle des plantes développées à la lumière n'a que quelques millimètres. Sont mis en culture : pour les plantes germées à la lumière un fragment de mésocotyle (A) et plusieurs fragments de coléoptile ($B_1$ $B_2$ $B_3$) (fig. 1) et pour les plantes étiolées trois fragments de mésocotyle ($A_1$ $A_2$ $A_3$) et deux fragments de coléoptile ($B_1$ $B_2$) (fig. 2).

### 2. — *Choix des milieux d'initiation des cals*

Avant de décider de faire varier l'un quelconque des paramètres du milieu, nous avons testé les milieux de GREEN et PHILLIPS (1975), SHERIDAN (1975), ainsi que le milieu classiquement utilisé pour *Nicotiana tabacum* (macro- et micro éléments de MURASHIGE et SKOOG (MS), Fer EDTA $10^{-3}$, 2 mg/l de 2-4 D, solution

de vitamines et glutamine à 200 mg/l, saccharose à 2 p. cent et agar à 0,7 p. cent). Les milieux testés n'ont donné de résultats satisfaisants pour aucun des trois génotypes utilisés. Seul le milieu MS permettait une faible initiation. Il a donc été choisi de faire varier dans les milieux, les substances qui, d'après la bibliographie, semblaient ou pouvaient avoir un rôle prépondérant dans l'initiation et la croissance des cals.

Afin de pouvoir mieux préciser l'effet de chacune de ces substances ainsi que la nature de leurs interactions, nous avons défini un plan expérimental selon la méthode des plans factoriels incomplets (CHAPOUILLE, 1973; MORGAN et DEMING, 1974). Cette méthode implique *a*) que deux niveaux soient déterminés pour chacun des facteurs dont on veut mesurer l'effet; *b*) que pour chaque milieu, les niveaux attribués à chacun des facteurs soient tels que les comparaisons servant à estimer leur effet soient orthogonales; *c*) que les interactions d'ordre 1 supposées *a priori* significatives ne se confondent pas avec les effets primaires des facteurs; les interactions d'ordre supérieur à 1 étant supposées négligeables. Cinq facteurs ont été retenus et parmi les $2^5$ combinaisons de ces facteurs entre eux, 8 ont été choisies, constituant ainsi un plan factoriel en quart de réplique.

— *Auxine* ($X_1$) : comme auxine, nous avons choisi le 2-4 D (acide 2-4 dichlorophénoxyacétique) qui semble être la substance de croissance la plus efficace (SHERIDAN, 1975; GREEN et PHILLIPS, 1974). La gamme des concentrations utilisées est très large mais les concentrations efficaces semblent se situer entre 2 mg/l et 10 mg/l. Nous avons retenu, pour chacun des niveaux, 2 mg/l et 4 mg/l.

— *Thiamine* ($X_2$) : parmi les vitamines il a été constaté (LINSMAIER et SKOOG, 1965) que sur le Tabac, la thiamine avait un effet prépondérant et essentiel sur la croissance des cals. Afin de déceler un effet éventuel de la thiamine sur le Maïs, nous avons testé deux concentrations très différentes, 1 mg/l et 40 mg/l.

— *Vitamines* ($X_3$) : les autres vitamines ont été considérées en bloc et leur effet testé par leur présence (biotine $10^{-8}$, ac. nicotinique $10^{-6}$, pyridoxine $10^{-6}$, panthoténate de calcium $10^{-6}$, chlorhydrate de cystéine $10^{-6}$) ou leur absence.

— *Acides aminés* ($X_4$) : la glutamine est classiquement utilisée dans les milieux pour favoriser l'assimilation des nitrates; la glycine et l'asparagine ont été utilisées par GREEN et PHILLIPS dans leur milieu d'initiation. Nous avons donc opposé la glutamine (200 mg/l) à la glycine (200 mg/l) plus l'asparagine (2 g/l).

— *Cytokinine* ($X_5$) : l'initiation des cals et leurs croissance requièrent généralement l'association d'une cytokinine et d'une auxine. Toutefois la plupart des auteurs signalent soit une absence d'effet soit une action inhibitrice de la kinétine sur la croissance des cals de maïs. Nous avons donc mesuré l'effet de l'absence et de la présence de 0,2 mg/l de kinétine. A cette concentration, la kinétine s'est révélée être extrêmement rhizogène, bien que n'inhibant pas la callogenèse. Nous avons donc supprimer la kinétine dans le plan d'expérience en conservant 8 milieux avec les mêmes associations pour les autres facteurs. On a alors un plan factoriel en demi replique ($8/2^4$ combinaisons retenues) dans lequel par conséquent les confusions d'effet sont moins nombreuses (tabl. 1*b*).

Les autres facteurs du milieu sont ceux précédemment décrits pour le milieu *Nicotiana tabacum*.

TABLEAU Ia

*Niveau + et — pour chacun des paramètres X variables du milieu.*

| Niveau \ Facteurs du milieu | $X_1$ 2-4 D | $X_2$ Thiamine | $X_3$ Vitamines | $X_4$ Ac. aminés | $X_5$ Kinétine |
|---|---|---|---|---|---|
| + | 4 mg/l | 40 mg/l | Présence | 2 g/l d'ASN<br>0,2 g/l de GLY | 0,2 mg/l |
| — | 2 mg/l | 1 mg/l | Absence | 0,2 g/l de GLN | absence |

TABLEAU Ib

*Plan factoriel incomplet* : $\frac{1}{2} 2^4$

*Seuls les effets primaires et les interactions d'ordre 1 sont indiqués, avec les confusions choisies. Les interactions d'ordre supérieur à 1 sont supposées négligeables.*

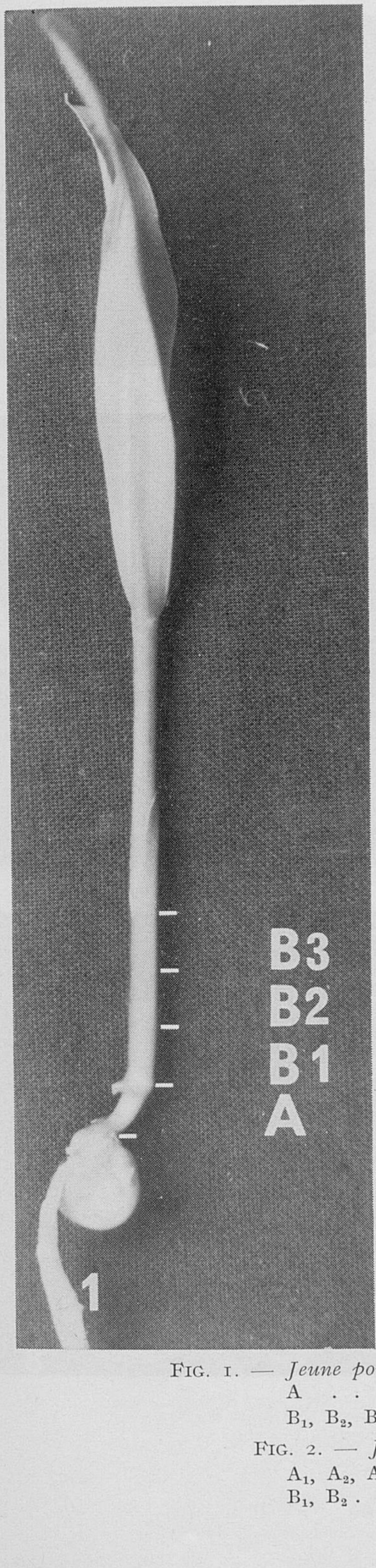
| Milieux \ Facteurs | $X_1 \equiv X_{34}$ (1) | $X_2 \equiv X_{1234}$ | $X_3 \equiv X_{14}$ | $X_4 \equiv X_{13}$ | $X_{24}$ | $X_{12}$ | $X_{23}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $M_1$ | — | — | + | — | + | + | — |
| $M_2$ | + | — | — | — | + | — | + |
| $M_3$ | + | + | + | + | + | + | + |
| $M_4$ | — | + | — | + | + | — | — |
| $M_5$ | + | + | — | — | — | + | — |
| $M_6$ | — | + | + | — | — | — | + |
| $M_7$ | — | — | — | + | — | + | + |
| $M_8$ | + | — | + | + | — | — | — |

(1) $X_{34}$ correspond à l'interaction entre les vitamines ($X_3$) et les acides aminés ($X_4$). Le même principe de notation est utilisé pour les autres interactions d'ordre 1 et supérieur.

Dans la présentation des résultats, nous avons distingué, d'une part le nombre de fragments ayant initié au moins un cal (I) et d'autre part le nombre de cals obtenus après fractionnement des cals initiés (R). Les nombres de fragments mis en culture (F) sont différents pour l'hybride et les deux lignées, aussi nous avons préféré effectuer les analyses statistiques sur les rapports I/F et R/I. Les analyse, de variance ont été faites selon un modèle fixé de type $Y_{ij} = \mu + \gamma_i + \psi_j + \varepsilon_{ij}$ où $Y_{ij}$ est égal soit à I/F soit à R/I; $\gamma_i$ est l'effet génotype et $\psi_j$ l'effet traitements; ce dernier paramètre se rapporte donc soit à la nature du tissu mis en culture, soit aux milieux utilisés. Dans les deux cas, l'erreur $\varepsilon_{ij}$ est confondue avec l'interaction génotype-traitement. On a donc choisi un seuil de signification ($P = 0{,}10$).

## 3. — *Conditions de culture*

Après la mise en culture, les tubes sont placés trois semaines à l'obscurité à 25 °C, puis sont éclairés 16 heures par jour à la même température.



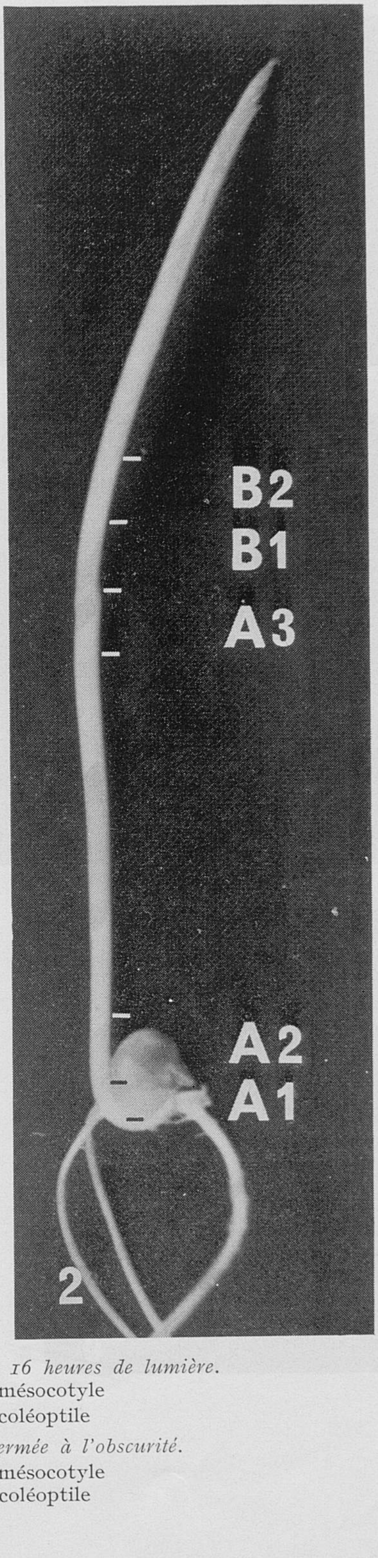




FIG. 1. — *Jeune pousse germée en 16 heures de lumière.*

A . . . . . . . . mésocotyle

$B_1$, $B_2$, $B_3$ . . . . . coléoptile

FIG. 2. — *Jeune pousse germée à l'obscurité.*

$A_1$, $A_2$, $A_3$ . . . . . mésocotyle

$B_1$, $B_2$ . . . . . . . coléoptile

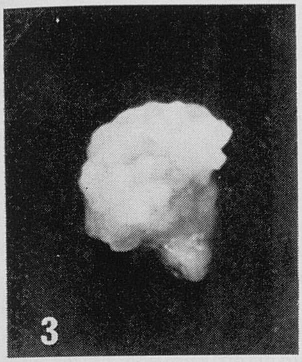
FIG. 3. — *Cal compact et mamelonné, généralement de couleur jaune.*

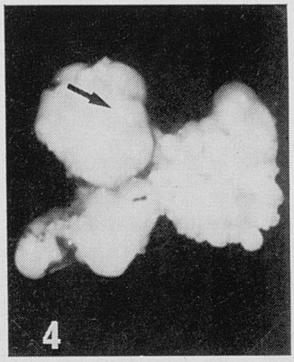
FIG. 4 et 5. — *Tout ou partie d'un cal peut être recouvert d'une substance gélatineuse sans doute secrétée par les cellules et qui lui donne un aspect luisant (flèches)*

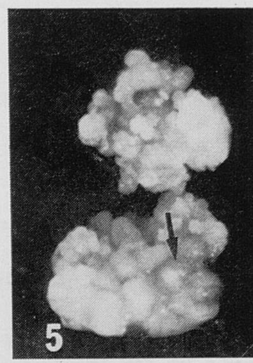
FIG. 6. — *Certains mamelons peuvent avoir une croissance plus importante, jusqu'à former des protubérances, certaines devenant pileuses.*

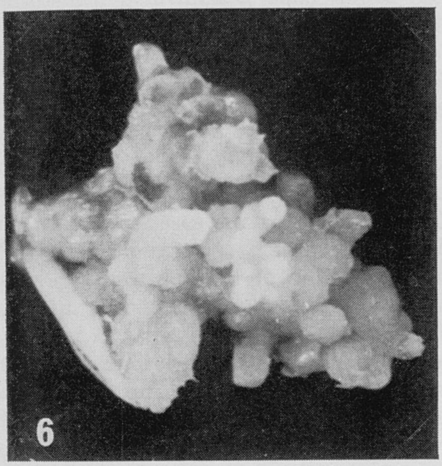
FIG. 7. — *Au bout de 4 à 6 semaines aprés le premier repiquage, certaines protubérances deviennent de véritables racines généralement assez épaisses.*

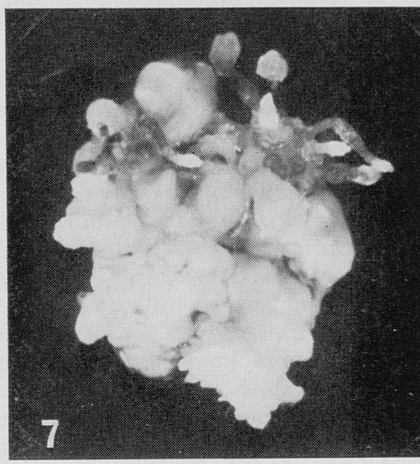
FIG. 8 et 9. — *Sur les milieux avec 0,2 mg/l de kinétine, l'induction de racines est rapide, dès la deuxième semaine après le premier repiquage et plus ou moins importante selon les milieux. Sur les milieux 1, 3 et 4, avec kinétine, les cals poursuivent leur croissance tout en émettant des racines (fig. 8). Sur le milieu 2 avec kinétine, il a y formation de racines sur l'ensemble du cal dont la croissance est arrêtée (fig. 9).*

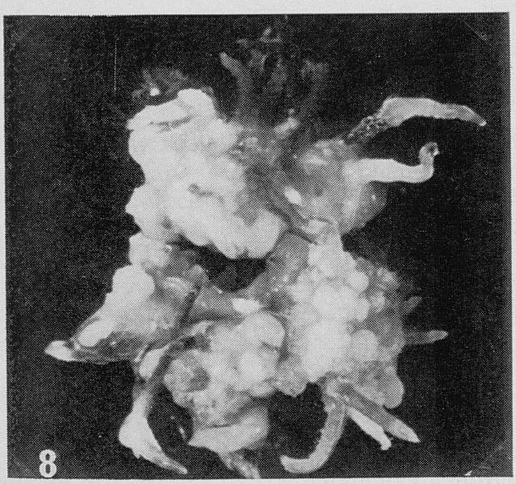

3


4


5


6


7


8


9

## Résultats

### 1. — *Description des cals*

Les cals initiés à partir de fragments de jeunes pousses ou d'apex se présentent sous la forme de petites masses inorganisées translucides.

Après repiquage sur le même milieu que le milieu d'initiation, on observe une évolution de l'aspect des cals. Le cal peut évoluer, vers un aspect compact et mammelonné (fig. 3) généralement de couleur jaune ou vers un aspect lisse et luisant de couleur variable allant du gris-vert au jaune. Cet aspect est dû à une substance gélatineuse, sans doute sécrétée par les cellules, qui recouvre le cal mamelonné (fig. 4). Le plus souvent, les cals présentent ces deux aspects à la fois (fig. 4 et 5).

Sur les milieux sans kinétine, certains mamelons se développent plus que d'autres (fig. 5). Les protubérances ainsi formées peuvent devenir pileuses (fig. 6 et 7) et se transformer en racines (fig. 7). Lors du premier cycle de repiquage, cette évolution s'est faite entre la 4$^{e}$ et la 6$^{e}$ semaine, selon les cals et les milieux. Sur les milieux avec kinétine, il y a apparition de racines plus ou moins longues et plus ou moins épaisses sur tous les cals, dès la deuxième semaine après le repiquage. Sur les milieux 1. 3. 4. la croissance du cal se poursuit, associée à la rhizogenèse (fig. 8) alors que sur le milieu 2 le processus de rhizogenèse atteint tout le cal (fig. 9). Après éclatement des cals et section des éventuelles racines, quel que soit l'aspect des fragments repiqués sur milieu sans kinétine, on constate que l'on a toujours évolution du cal vers un aspect compact et mamelonné homogène et de couleur jaune. Cette évolution est associée à une diminution de la tendance à initier des racines ou des protubérances pileuses même si la durée entre deux repiquages sur milieu identique excède 6 semaines.

### 2. — *Effet du tissu prélevé*

a) *Apex*

Une initiation de cals très irrégulière est obtenue, de plus les explants exsudent rapidement dans le milieu des phénols qui inhibent la croissance des cals initiés. Si l'on repique ces cals peu de temps après le passage à la lumière, on n'observe plus de production de phénols mais la croissance des cals reste faible quel que soit le milieu.

C'est pourquoi l'analyse des effets milieux et génotypes ne porte que sur les résultats obtenus pour les fragments de jeunes pousses.

b) *Fragments de jeunes pousses*

La mesure de l'effet dû à la nature du tissu mis en culture n'est effectuée que sur les proportions de fragments ayant initié un cal au moins (I/F). La décomposition de l'effet niveau de prélèvement dans l'analyse de variance (tabl. 2 et 3), montre qu'il y a un effet hautement significatif des conditions de germination; la germination à la lumière (GL) est plus efficace que celle à l'obscurité (GO)

TABLEAU 2

*Induction de la callogenèse selon le niveau de prélèvement sur les plantes germées à la lumière et à l'obscurité*

| Génotypes \ Niveaux | | Germination à la lumière (GL) | | | | Germination à l'obscurité (GO) | | | | | GL | GO |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | A | $B_1$ | $B_2$ | $B_3$ | $A_1$ | $A_2$ | $A_3$ | $B_1$ | $B_2$(1) | | |
| HYB | F(2) | 48 | 48 | 48 | 48 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 192 | 160 |
| | I | 15 | 38 | 35 | 32 | 22 | 14 | 25 | 21 | 11 | 120 | 93 |
| | I/F | 0,31 | 0,79 | 0,72 | 0,67 | 0,69 | 0,44 | 0,78 | 0,66 | — | — | — |
| $F_7T$ | F | 24 | 24 | 24 | 24 | 16 | 16 | 16 | 16 | — | 96 | 64 |
| | I | 9 | 13 | 16 | 8 | 4 | 3 | 4 | 5 | — | 46 | 16 |
| | I/F | 0,38 | 0,54 | 0,67 | 0,33 | 0,25 | 0,19 | 0,25 | 0,31 | — | — | — |
| $F_7N$ | F | 24 | 24 | 24 | 24 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 96 | 80 |
| | I | 6 | 10 | 13 | 13 | 1 | 6 | 3 | 7 | 3 | 42 | 20 |
| | I/F | 0,25 | 0,42 | 0,54 | 0,54 | 0,06 | 0,25 | 0,12 | 0,29 | — | — | — |

(1) Les résultats de l'initiation de cals à partir du niveau $B_2$ n'ont pas été pris en compte dans l'analyse de variance du tableau 3, par contre, ils l'ont été pour les analyses des effets milieux.

(2) I = nombre de fragments mis en culture ayant initié au moins 1 cal.
F = nombre de fragments mis en culture.

TABLEAU 3

*Analyse de variance de l'effet niveau de prélèvement et de l'effet génotype*(1)

| | SC | dl | CM |
|---|---|---|---|
| Effet niveau | 1 367,58 | 7 | |
| $AB_1\ B_2\ B_3\ /A_1\ A_2\ A_3\ B_1$(2) | 877,64 | 1 | 877,64(***) |
| $A\ /B_1\ B_2\ B_3$ | 216,24 | 1 | 216,24(**) |
| $A_1\ A_2\ A_3\ /B_1$ | 52,18 | 1 | 52,18 NS |
| Effet génotype | 1 827,45 | 2 | |
| Hyb. /Lignées | 1 761,76 | 1 | 1 761,76(***) |
| $F_7T\ /F_7N$ | 65,69 | 1 | 65,69 NS |
| Erreur | 1 009,19 | 14 | 72,08 |
| Total | 4 204,22 | 23 | |

(***) Significatif au seuil 1 p. cent; (**) Significatif au seuil 5 p. cent; (*) Significatif au seuil 10 p. cent
(1) Cette analyse a été effectuée sur les données I /F transformées en Arc sin I /F.
(2) L'effet $AB_1B_2B_3\ /A_1A_2A_3B_1$ est égal à l'effet traitement : germination à la lumière / germination à l'obscurité.

pour l'initiation de cals. On montre de même que les fragments de coléoptile des plantes germées à la lumière ont un rendement en cals supérieur à celui des fragments de mésocotyle. Par contre, il n'apparaît aucun effet du niveau de prélèvement pour les plantes germées à l'obscurité.

Les effets GL /GO ainsi que les effets mésocotyle /coléoptile dans chaque condition de germination correspondent à 84 p. cent de la somme des carrés de l'effet niveau, c'est pourquoi nous n'avons pas jugé nécessaire de pousser plus loin la décomposition de l'effet niveau.

Une analyse de variance comparable a été effectuée sur les rapports R /I mais aucun effet dû à la nature du tissu prélevé n'est décelable. Ceci signifie qu'une fois le cal initié, celui-ci est affranchi du fragment de jeune pousse et que sa croissance ne dépend plus que du milieu de culture.

### 3. — *Effets milieux*

Les effets milieux sont mesurés à la fois sur l'initiation des cals (I /F) et sur l'importance de la callogenèse (R /I) (tabl. 4). Dans chaque cas, on procède en deux étapes : on évalue dans un premier temps l'effet milieu global selon le modèle statistique utilisé précédemment et ensuite les effets dus à chaque paramètre du milieu et à leurs interactions pour chaque génotype. Un facteur des milieux ($j$) aura un effet significatif sur un génotype ($i$) si la somme des $Y_{ij}$ pour le niveau + et la somme des $Y_{ij}$ pour le niveau — de ce facteur sont significativement différentes.

a) *Initiation des cals* (tabl. 4, 5*a*, 6*a*)

L'analyse de variance ne permet pas de mettre en évidence d'effet milieu (tabl. 5*a*); ceci peut être dû au fait que la filiation des cals n'ayant pas été faite,

TABLEAU 4

*Induction de la callogenèse (I et I/F) et importance de celle-ci (R et R/I) par milieu et par génotype*

| Génotypes | Milieux | $M_1$ | $M_2$ | $M_3$ | $M_4$ | $M_5$ | $M_6$ | $M_7$ | $M_8$ | $\sum$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| HYB | I . . . . . . . . . . | 25 | 25 | 25 | 19 | 30 | 31 | 30 | 28 | 213 |
| | R . . . . . . . . . . | 44 | 53 | 39 | 26 | 80 | 68 | 60 | 60 | 430 |
| | I/F (F = 44) . . . . | 0,57 | 0,57 | 0,57 | 0,43 | 0,68 | 0,70 | 0,68 | 0,64 | — |
| | R/I . . . . . . . . . | 1,76 | 2,12 | 1,56 | 1,37 | 2,67 | 2,19 | 2,00 | 2,14 | — |
| $F_7T$ | I . . . . . . . . . . | 8 | 8 | 5 | 9 | 6 | 11 | 7 | 8 | 62 |
| | R . . . . . . . . . . | 12 | 9 | 6 | 13 | 13 | 15 | 13 | 14 | 95 |
| | I/F (F = 20) . . . . | 0,40 | 0,40 | 0,25 | 0,45 | 0,30 | 0,55 | 0,35 | 0,40 | — |
| | R/I . . . . . . . . . | 1,50 | 1,13 | 1,20 | 1,44 | 2,17 | 1,36 | 1,86 | 1,75 | — |
| $F_7N$ | I . . . . . . . . . . | 13 | 8 | 9 | 6 | 8 | 4 | 7 | 7 | 62 |
| | R . . . . . . . . . . | 19 | 9 | 11 | 6 | 8 | 8 | 12 | 11 | 84 |
| | I/F (F = 22) . . . . | 0,54 | 0,33 | 0,37 | 0,25 | 0,33 | 0,17 | 0,29 | 0,29 | — |
| | R/I . . . . . . . . . | 1,46 | 1,13 | 1,22 | 1,00 | 1,00 | 2,00 | 1,71 | 1,57 | — |

TABLEAU 5

a) *Analyse de variance de l'effet milieu sur l'induction de la callogenèse (l'analyse est faite sur les valeurs I/F).*

| | SC | | dl | | CM | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Effes milieu | 0,037 | | 7 | | 0,005 NS | |
| Effet génotype | 0,355 | | 2 | | | |
| Hyb/lignées | | 0,335 | | 1 | | 0,335(***) |
| $F_7T/F_7N$ | | 0,020 | | 1 | | 0,020 NS |
| Erreur | 0,158 | | 14 | | 0,011 | |
| Total | 0,550 | | 23 | | | |

b) *Analyse de variance de l'effet milieu sur l'importance de la callogenèse. (l'analyse est faite sur les valeurs R/I).*

| | SC | | dl | | CM | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Effet milieu | 1,47 | | 7 | | 0,21 NS | |
| Effet génotype | 1,48 | | 2 | | | |
| Hyb/lignées | | 1,37 | | 1 | | 1,37(***) |
| $F_7T/F_7N$ | | 0,11 | | 1 | | 0,11 NS |
| Erreur | 1,48 | | 14 | | 0,11 | |
| Total | 4,43 | | 23 | | | |

(***) Significatif au seuil 1 p. cent; (**) Significatif au seuil 5 p. cent; (*) Significatif au seuil 10 p. cent.

l'erreur est confondue avec l'interaction génotype-milieu et dans ces conditions, on ne peut exclure que l'erreur soit surestimée. Parmi les facteurs du milieu, seul le 2-4 D a un effet limité à la lignée $F_7T$ (tabl. 6). Parmi les interactions d'ordre 1, on a des effets significatifs variant selon les génotypes : l'interaction 2-4 D-thiamine ($X_{12}$) a un effet significatif sur l'initiation des cals de $F_7N$ et $F_7T$ mais cet effet est positif pour $F_7N$ et négatif pour $F_7T$, l'interaction thiamine-acides aminés ($X_{24}$) est négative pour l'hybride et positive pour $F_7N$.

b) *Importance de l'initiation* (tabl. 4, 5*b*, 6*b*)

Comme pour l'induction de la callogenèse et sans doute pour les mêmes raisons que celles invoquées précédemment, il n'y a pas d'effet milieu.

Pour les effets primaires des facteurs du milieu, on constate que le 2-4 D n'agit pas sur la lignée $F_7T$ mais sur la lignée $F_7N$, de plus on observe que la présence de

TABLEAU 6

*Effets des différents facteurs dex milieux et de leurs interactions sur* a) *l'induction de la callogenèse et* b) *l'importance de l'induction*

| Facteurs du milieu | *a*) Induction callogenèse (I/F) | | | *b*) Importance de l'induction (R/I) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | HYB | $F_7T$ | $F_7N$ | HYB | $F_7T$ | $F_7N$ |
| $X_1 \equiv X_{24}$ . . . . . . . . . . . . . | 0,08 | — 0,40(*) | 0,07 | 1,17 | 0,09 | — 1,25(*) |
| $X_2 \equiv X_{1234}$ . . . . . . . . . . . . | — 0,08 | 0,00 | — 0,33 | — 0,23 | — 0,07 | — 0,65 |
| $X_3 \equiv X_{14}$ . . . . . . . . . . . . . | — 0,12 | 0,10 | 0,17 | — 0,51 | — 0,79 | 1,41(*) |
| $X_4 \equiv X_{13}$ . . . . . . . . . . . . . | — 0,20 | — 0,20 | — 0,17 | — 1,67(**) | 0,09 | — 0,09 |
| $X_{12}$ . . . . . . . . . . . . . . . . | 0,16 | — 0,50(*) | 0,49(*) | 0,17 | 1,05 | — 0,31 |
| $X_{23}$ . . . . . . . . . . . . . . . . | 0,20 | 0,00 | — 0,25 | 0,07 | — 1,31(*) | — 1,03 |
| $X_{24}$ . . . . . . . . . . . . . . . . | — 0,56(**) | — 0,10 | 0,41(*) | — 2,19(**) | — 1,87(**) | — 1,47(*) |

• (***) Significatif au seuil 1 p. cent; (**) Significatif au seuil 5 p. cent; (*) Significatif au seuil 10 p. cent;

• Les données indiquées dans le tableau correspondant aux différences entre la somme des valeurs pour les $Y_{ij}$ (+) et la somme des $Y_{ij}$ (—). Pour chacun des génotypes, c'est-à-dire « *i* » étant fixé, l'hypothèse nulle [$H_o = Y_{ij} (+) - Y_{ij} (-) = 0$] est testée par un test *t* unilatéral.

• Les données encadrées permettent de mettre en évidence, soit un effet significatif pour tous les génotypes, soit un effet lignées, soit un effet cytoplasme.

glutamine est plus favorable à la croissance des cals de l'hybride que l'association asparagine-glycine, du moins aux concentrations utilisées.

Par ailleurs, l'effet de l'interaction thiamine-acides aminés ($X_{24}$) se confirme pour l'hybride et s'étend aux deux lignées. Enfin, l'interaction thiamine-vitamine ($X_{23}$) a un effet défavorable sur la croissance des cals de la lignée $F_7T$.

### 4. — *Effets génotypes*

Quel que soit le mode de germination et quel que soit le milieu d'initiation, les analyses de variance révèlent que l'hybride a une aptitude à l'initiation de cals supérieure à celle des lignées (tabl. 3 et 5a), et que la croissance des cals initiés est également plus importante pour l'hybride (tabl. 5b). Enfin, dans aucun de ces cas, il n'apparaît de différence entre les deux lignées $F_7T$ et $F_7N$.

Dans l'analyse des effets des facteurs du milieu, on observe aussi un effet hybride pour le facteur acides aminés : la glutamine a un effet favorable sur la prolifération des cals hybrides et pas d'effet sur celle des deux lignées (tabl. 6). Enfin, un « effet cytoplasme », masqué dans les analyses de variance par l'effet hybride, semble pouvoir être mis en évidence : on constate (tabl. 6b) que le 2-4 D et le groupe de vitamines ont des effets comparables sur la croissance des cals des deux génotypes à cytoplasme Texas, différents de ceux constatés sur le génotype à cytoplasme normal.

## Conclusions

Les résultats acquis au cours de ces expériences apportent donc quelques éléments de réponse aux questions posées, ainsi que des informations pour des expérimentations ultérieures.

1) L'initiation de cals de maïs peut être obtenue à partir de tissus de nature et d'état physiologique différents; cependant, il semble préférable d'utiliser des tissus de jeunes pousses de 1-2 feuilles plutôt que des apex de plantes de 6-7 feuilles; de plus, les coléoptiles de jeunes pousses germées à la lumière ont un rendement en cal supérieur.

2) Certains des milieux utilisés permettent d'obtenir une croissance satisfaisante des cals, sans émission de racines. Cependant, les cals conservent toujours un aspect compact et mamelonné, même après plusieurs repiquages. Une optimisation du milieu est donc nécessaire de manière à obtenir des cals de plus grande friabilité, cela afin de rendre plus facile leur dissociation en milieu liquide puisque pour des raisons données par ailleurs, (VUILLAUME 1977), la mutagenèse *in vitro* sera appliquée sur cellules isolées.

3) Parmi les paramètres du milieu que nous avons choisis de faire varier, la kinétine s'est révélée avoir un effet très néfaste puisqu'à la concentration utilisée (0,2 mg/l), il y a apparition de très nombreuses racines. Un effet dépressif de la kinétine sur la croissance des cals a été montré chez certaines espèces, le Soja (GAMBORG *et al.*, 1968), le Sorgho (SHERIDAN, 1975 et GREEN *et al.*, 1974); mais ces auteurs ne font pas mention de formation de racines.

DIJBY et SKOOG (1966) et LINSMAIER et SKOOG (1967) ont étudié sur des souches de tabac normales et autotrophes en cytokinine, les interactions entre

la thiamine et la kinétine. Ils concluent que la quantité endogène de cytokinine peut influencer notablement les quantités endogènes et/ou les exigences pour les autres constituants. En particulier, les souches qui synthétisent des quantités suffisantes de kinétine pour leur propre croissance, produisent aussi de l'auxine et sont de plus capables de croître sur milieu sans thiamine.

On peut donc admettre que les tissus de maïs ont un taux de synthèse endogène de cytokinine suffisant pour assurer leur croissance et qu'une addition de 0,2 mg/l de kinétine associée à des concentrations en 2-4 D de 2 et 4 mg/l crée les conditions favorables à la rhizogenèse. Une étude plus complète des effets des auxines et des cytokinines est donc à réaliser sur notre matériel.

4) Les raisons évoquées précédemment sur l'importance de la synthèse endogène de cytokinine expliquent qu'aucun effet de la thiamine n'ait été mis en évidence; mais ce point devra être confirmé par des cultures sur milieu sans thiamine

5) La glycine et l'asparagine ont un effet défavorable sur la croissance des cals hybrides, mais il apparaît que l'effet dû à l'interaction entre ces acides aminés et la thiamine est négatif pour les trois génotypes. Ce type d'interaction n'a, à notre connaissance jamais été signalé, une étude complémentaire est donc nécessaire pour la préciser.

6) Un effet génotype dû au cytoplasme semble exister, mais une confirmation est nécessaire pour la recherche des conditions de milieu qui accentueront les différences observées entre le cytoplasme N et le cytoplasme Texas.

*Reçu pour publication en avril 1977.*

## Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier M. M. A. DALEBROUX, fonctionnaire scientifique des Communautés Européennes, pour ses conseils dans l'interprétation statistique des résultats et M. J. DELBUT et R. BRUNEAU pour leur aide matérielle.

## Summary

*Initiation of callus formation on mesocotyl and coleoptile segments of maize.*

The initiation of callus formation in maize was studied on the $F_7T$ and $F_7N$ lines and on the $F_7T \times F_{71}$ hybrid. This study bore on the response of different types of tissues to cultivation and on the effects of the organic compounds of the medium.

The cultivated explants were either apex segments cut off on 6-7 leaves plants, grown under glass, or mesocotyl or coleoptile segments excised on young shoots obtained after eight days germination in the light or the dark. The large amount of phenols which diffused in the medium out of the apex segments inhibited the proliferation of the initiated callus. This phenomenon did not occur in the case of the young shoot segments, but it could be noted that the initiation was better when germination took place under light conditions and, in this case, the mesocotyl did not initiate as well as the coleoptile.

The medium components studied on the basis of an incomplete factorial plan were: the 2-4 D, the kinetin, the thiamin, a group of vitamins B and the following amino-acids: glutamine, glycin and asparagine. Their effects both on the induction and importance of callus formation were measured for the mesocotyl and coleoptile segments cultivated.

The results obtained in presence of kinetin are not included in the analysis, as, whatever

the genotype and the other organic factors in the medium are, if kinetin presence (0.2 mg/l) does not inhibit callus initiation, the latter is very rapidly followed by a new differentiation as roots. As for the other medium factors it was stated that their effects greatly varied according to the genotype. It seems however that there is a cytoplasm effect for some of these factors (the hybrid and the $F_7T$ line have the same cytoplasm « Texas »). It was also observed that, whatever the medium was, the hybrid initiated more and bigger callus than the two lines.

## Références bibliographiques

AHLOOWALIA B. S., 1975. Regeneration of ryegrass plants in tissue culture. *Crop Sci.*, **15**, 449-452.

BURR B., NELSON O., 1972. Induction and maintenance of maize callus tissue. *Maize Genet. Coop. Newsl.*, **46**, 202-203.

CHAPOUILLE P., 1973. *Planification et analyses des expériences*, Masson et Cie, Paris, 190 p.

CORNU A., CASSINI R., BERVILLÉ A., VUILLAUME E., 1977. Recherche par mutagenèse d'une résistance à *Helminthosporium maydis* race T chez les Maïs à cytoplasme mâle-stérile Texas. *Colloque Internationale sur l'utilisation des mutations induites pour l'amélioration de la résistance aux maladies des plantes de grande culture*, 31 janv.-4 fév. 1977, Vienne. IAEA (sous-presse).

DIJBY J., SKOOG F., 1966. Cytokinin activation of thiamine biosynthesis in tobacco callus cultures. *Plant. Physiol.*, **41**, 647-652.

GAMBORG O. L., MILLER R. A., OJIMA K., 1968. Nutrient requierements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell. Res.*, **50**, 151-158.

GENGENBACH B. G., GREEN C. E., 1975. Selection of T cytoplasm maize callus cultures resistant to *Heminthosporium maydis* race T pathotoxin. *Crop Sci.*, **15**, 645-649.

GREEN C. E., PHILLIPS R. L., 1975. Plant regeneration from tissue cultures of maize. *Crop Sci.*, **15**, 417-421.

GREEN C. E., PHILLIPS R. L., KLEESE R. A., 1974. Tissue cultures of maize (*Zea mays L.*) : initiation, maintenance and organic growth factors. *Crop Sci.*, **14**, 54-58.

GRESSHOFF P. M., DOY C. H., 1973. *Zea mays*: methods for diploid callus cultures and subsequent differentiation of various plant structures. *Austr. J. biol. Sci.*, **26**, 506-508.

HEINZ D. J., MEE G. W. P., 1969. Plant differentiation from callus of saccharum species. *Crop Sci.*, **9**, 346-348.

LINSMAIER E. M., SKOOG F., 1965. Organic growth requierements of tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, **18**, 100-127.

LINSMAIER-BEDNAR E. M., SKOOG F., 1967. Thiamine requierement in relation to cytokinin in « normal » and « mutant » strains of tobacco callus. *Planta*, **72**, 146-154.

MASTELLER V. J., HOLDEN D. J., 1970. The growth of and organ formation from callus tissue of Sorghum. *Plant Physiol.*, **45**, 362-364.

MORGAN S. L., DEMING S. N., 1974. Simplex optimisation of analytical chemical methods. *Anal. Chem.*, **46**, 1 170-1 181.

MURASHIGE T., SKOOG F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, **15**, 473-497.

PERSON C. B., HORNER H. T., Jr. 1976. Callus formation and differentiation in tissue cultures of Normal and Texas cytoplasmic male sterile corn. *Proc. Iowa Acad. Sci.*, **82**, 163-165.

SHERIDAN W. F., 1972. Induction and growth of callus of corn and wheat. *J. Cell Biol.*, **55**, 237a, Part. 2.

SHERIDAN W. F., 1975. Tissue culture of maize: callus induction and growth. *Physiol. Plant.*, **33**, 151-156.

TATUM L. A., 1971. The southern corn leaf blight epidemic. *Science*, **171**, 1 113-1 116.

VUILLAUME E., 1977. Mutagenèse *in vivo* et *in vitro* dans le cas de la recherche de maïs résistant. *Colloque « Sélection pour les résistances »*, Angers 28 juin-1er juillet 1976). *TDR*(*), n° 2, 71-75.

---

(*) TDR, Bulletin de liaison interne du Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes de l'I.N.R.A., a une circulation restreinte; une copie de l'article cité peut être obtenue en s'adressant au Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes, 11, rue Jean Nicot, 75007 Paris, ou à l'auteur.

the genotype and the other organic factors in the medium are of [illegible] importance. [illegible] does not inhibit callus initiation, the latter is very rapidly followed by a new differentiation of roots. As for the callus growth in [illegible] that [illegible] greatly varied according to the genotype [illegible] whatever the medium was, the hybrid initiated more and bigger calli than the two lines.

## Références bibliographiques


[illegible] B. S., 1974. Regeneration of [illegible] plants in tissue culture. [illegible], 16, [illegible]

[illegible] O., 1966. Induction and maintenance of maize callus tissue. Maize [illegible]

[illegible] R., 1971. Planification d'analyses des expériences. Masson et Cie, Paris, [illegible]

[illegible], 1977. Recherche par [illegible] d'une [illegible] Maïs [illegible] in vitro [illegible]

[illegible] J., [illegible] F., 1966. Cytokinin activation of thiamine biosynthesis in tobacco callus cultures. Plant Physiol., 41, [illegible]

[illegible], MILLER R. A., [illegible], 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Exp. Cell Res., 50, [illegible]

GENGENBACH B. G., GREEN C. E., 1975. Selection of T cytoplasm maize callus cultures resistant to Helminthosporium maydis race T pathotoxin. Crop Sci., 15, [illegible]

GREEN C. E., PHILLIPS R. L., 1975. Plant regeneration from tissue cultures of maize. Crop Sci., 15, [illegible]

GREEN C. E., PHILLIPS R. L., KLEESE R. A., 1974. Tissue cultures of maize (Zea mays L.): initiation, maintenance and organic growth factors. Crop Sci., 14, 54-58.

GRESSHOFF P. M., DOY C. H., 1973. Zea mays: methods for diploid callus cultures and subsequent differentiation of various plant structures. Aust. J. Biol. Sci., 26, [illegible]

HEINZ D. J., MEE G. W. P., 1969. Plant differentiation from callus tissue of Saccharum species. Crop Sci., 9, [illegible]

LINSMAIER E. M., SKOOG F., 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. Physiol. Plant., 18, 100-127.

LINSMAIER-BEDNAR E. M., SKOOG F., 1967. Thiamine requirement in relation to cytokinin in normal and mutant strains of tobacco callus. Planta, 72, [illegible]

MASTELLER V. J., HOLDEN D. J., 1970. The growth of and organ formation from callus tissue of sorghum. Plant Physiol., 45, [illegible]

[illegible] S. L., DEMING S. N., 1974. Simplex optimization of analytical chemical methods. Anal. Chem., 46, [illegible]

MURASHIGE T., SKOOG F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant., 15, [illegible]

[illegible] S., [illegible] H. T., 1976. Callus formation and differentiation in tissue cultures of [illegible]

[illegible] W. F., [illegible]. Initiation and growth of callus of corn and wheat. [illegible]

[illegible] W. F., [illegible]. Tissue culture of maize. [illegible]

[illegible] A., [illegible]. The southern corn leaf blight epidemic. Science, [illegible]

[illegible] R., 1977. [illegible] de la [illegible] de maïs [illegible]


---

(1) [illegible]

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (6), 675-703.

# Étude expérimentale de l'évolution de la vigueur de variétés synthétiques au cours des générations de multiplication

## I. But et description de l'expérience
## II. Évolution des variétés synthétiques chez le Dactyle (*Dactylis glomerata* L.) [1]

P. VINCOURT**, A. GALLAIS*, J.-C. BERTHOLLEAU*
*Station d'Amélioration des Plantes fourragères,*
*86600 Lusignan*

## Résumé

Chez sept espèces fourragères, l'évolution au cours des générations de multiplication, de différents caractères de synthétiques expérimentales, a été étudiée en fonction du nombre de constituants (2, 4, 8) et de leur origine. Cet article expose le protocole général et les résultats fournis par l'analyse statistique sur le Dactyle, *Dactylis glomerata*. Chez cette espèce, pour les deux densités étudiées (densité de prairie et plantes isolées), la description de l'évolution d'une synthétique requiert la connaissance de d'autant plus de paramètres (origine et valeur de la synthétique dans l'origine en première génération) que le nombre de constituants est faible. L'effet de la diversité d'origine des constituants décroît au cours des générations de multiplication ainsi que la différence moyenne entre synthétiques d'origines homogènes différentes. L'interprétation biologique de ces résultats sera publiée dans un autre article.

## Introduction

Pour le sélectionneur de plantes allogames, la création de variétés améliorées du point de vue du rendement passe par la recherche de l'hétérosis maximum. Selon la possibilité de contrôler l'hybridation à grande échelle de l'espèce, il orientera son choix vers les variétés hybrides ou vers les variétés synthétiques. Si la méthode de sélection d'une variété hybride est maintenant bien connue tant du point de vue théorique qu'expérimental, il n'en est pas de même pour les variétés synthétiques. Celles-ci peuvent être définies comme « des populations artificielles résultant de la multiplication sexuée, pendant un nombre déterminé de générations

(1) Expérience réalisée dans le cadre du groupe de travail « Fourrages » de l'I.N.R.A., Section Variétés Synthétiques dont les membres étaient les suivants : MM. ARNAUD, BERTHAUT, BERTHELEM, CLAVIER, DEMARLY, DU CRÉHU, GALLAIS, GILLET, GUY, HUGUES, HUTIN, JADAS, LENOBLE, MANSAT, NIQUEUX, PICARD, M[lle] CHESNEAUX.

(**) Responsable de l'interprétation sur toutes espèces. (*) Responsables de l'expérience Dactyle.

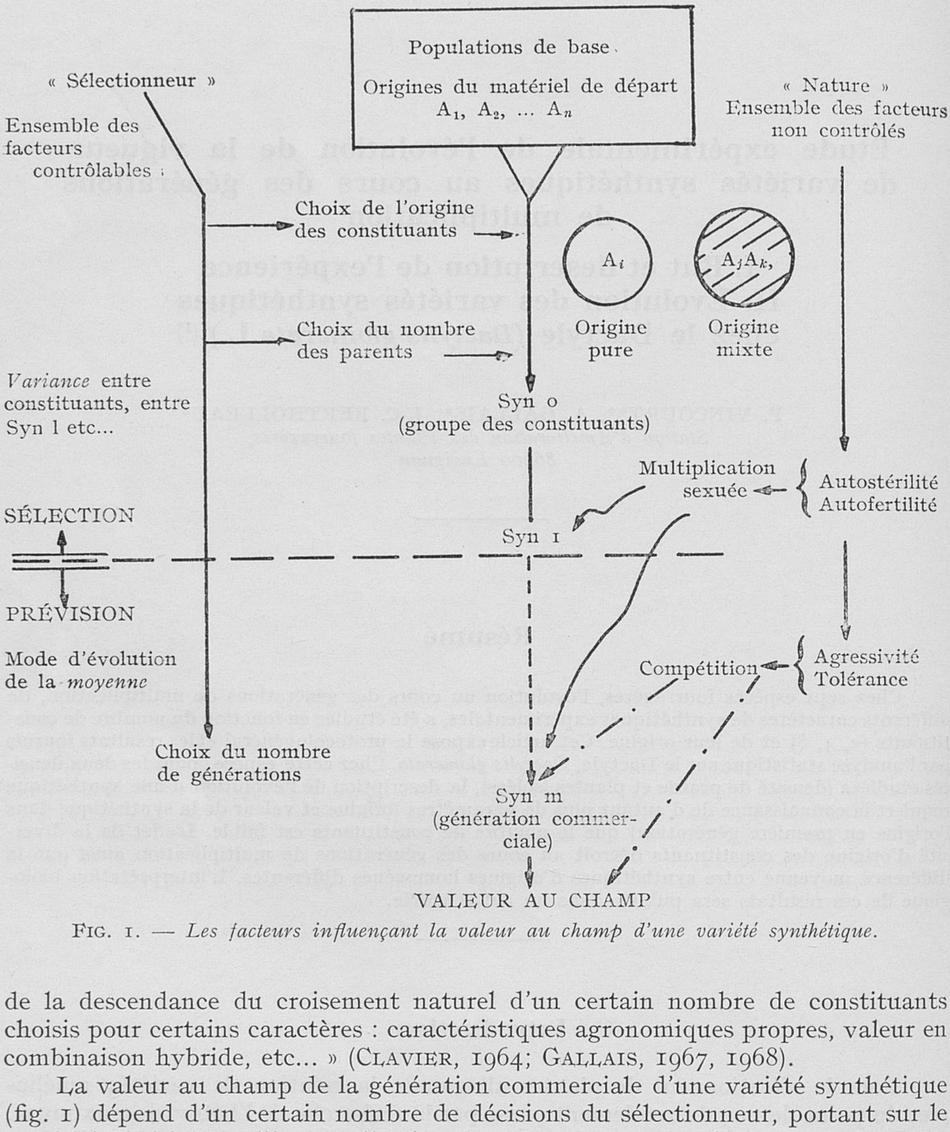



FIG. 1. — *Les facteurs influençant la valeur au champ d'une variété synthétique.*

de la descendance du croisement naturel d'un certain nombre de constituants choisis pour certains caractères : caractéristiques agronomiques propres, valeur en combinaison hybride, etc... » (CLAVIER, 1964; GALLAIS, 1967, 1968).

La valeur au champ de la génération commerciale d'une variété synthétique (fig. 1) dépend d'un certain nombre de décisions du sélectionneur, portant sur le matériel génétique qu'il veut sélectionner en tenant compte des paramètres naturels conditionnant la reproduction sexuée et le mode d'expression des génotypes dans différents milieux (phénomènes de compétition). Du fait des contraintes en temps et en matériel, le sélectionneur ne peut envisager d'attendre la génération commerciale pour pratiquer un choix entre variétés synthétiques. Il est donc amené à faire une sélection entre constituants ou entre groupes de constituants sur la base d'une prévision de la valeur des générations commerciales à partir de différents types de résultats, caractéristiques de la première génération de multiplication, caractéristiques des parents telles que valeur en autofécondation, en croisement, ou type morphologique (GALLAIS, 1973, 1974*b*, 1975).

Il lui importe donc de connaître les lois d'évolution de la vigueur d'une variété

synthétique particulière au cours des générations de multiplication. GALLAIS (1975) a montré que des formules de prévision pouvaient être développées, qui tiennent compte de la structure de la variété, des effets génétiques, du niveau de ploïdie. Les travaux de NEAL (1935), KINMAN et SPRAGUE (1945), KIESSELBACH (1960) sur le Maïs, de CORKILL (1956) sur le Ray-grass anglais, de BUSBICE (1974) sur Luzerne et de GALLAIS (1974*b*) sur Dactyle montrent que des prédicteurs considérant à la fois la valeur en autofécondation et la valeur en combinaison du matériel peuvent déjà être assez efficaces.

Cependant les différentes formules de prédiction utilisées n'ont pas considéré l'effet d'une sélection naturelle par compétition ou croisement préférentiel. De tels phénomènes permettent sans doute d'expliquer certains résultats obtenus par KEHR et GRAUMAN (1961) et GUY (1970*b*) sur l'effet du mode de synthèse : ainsi un hybride double multiplié et la synthétique correspondante ne conduisent pas au même résultat.

De nombreuses expériences ont été réalisées sur l'évolution de la vigueur d'une génération à l'autre (KEHR, 1961; CARNAHAN, 1960; BEDDOWS 1961; PEARSON, 1961; DAVIES), mais sans assez d'observations complémentaires susceptibles d'expliquer les évolutions observées. De plus, certaines expériences n'allaient pas au delà de la seconde génération de multiplication; or, les déviations à la panmixie, peuvent se cumuler d'une génération à l'autre.

Le problème de la prévision de la valeur d'une variété synthétique reste l'un des problèmes majeurs de la sélection de ce type de variété.

De plus, si la découverte de la stérilité mâle et la mise en évidence des phénomènes de compétition pollinique chez certaines espèces fourragères peuvent conduire à la création de variétés hybrides, la compétition au champ peut atténuer fortement l'avantage de ces dernières vis-à-vis des variétés synthétiques (GALLAIS, 1973). Le schéma « variétés synthétiques » risque donc d'être toujours important chez les plantes fourragères.

Pour tenter d'apporter les éléments de réponse à ces problèmes, le groupe de travail I.N.R.A. sur les plantes fourragères a décidé dès 1963 une expérimentation sur différentes espèces fourragères selon un dispositif commun.

## I. — But et description de l'expérience

Le but était d'étudier l'évolution des variétés synthétiques au cours des générations de multiplication, selon le nombre et l'origine des constituants, avec des espèces ayant des caractéristiques agronomiques et biologiques différentes, par exemple : le niveau de ploïdie, la biologie florale, etc... (tabl. I).

L'expérience pour l'ensemble des espèces a été étalée sur huit années : les trois premières générations de variétés synthétiques formées à partir de 2,4 ou 8 constituants, ont été produites durant 3 à 5 ans, stockées au froid, puis mises en essai. Le choix de ces constituants pouvait être fait dans deux populations de base différentes. Lorsqu'il y avait suffisamment de graines, toutes les populations synthétiques ont été installées à deux densités de plantation : forte densité (essai à densité de prairies) et faible densité (dispositif en plantes isolées). Compte tenu des variations qu'a subi le protocole initial, nous préciserons ultérieurement pour chaque espèce, le mode d'obtention du matériel végétal, et les caractères mesurés selon les coupes :

— Rendement en année d'installation (notée $A_0$) ou d'exploitation normale ($A_1$ et $A_2$).

TABLEAU I

*Les espèces figurant dans le protocole et certaines de leurs caractéristiques biologiques*

| | Espèces | Niveau de ploïdie | Implantation | Dispositif |
|---|---|---|---|---|
| Graminées (Pollinisation anémophile) | Dactyle | Autotétraploïde | Lusignan | Split-plot |
| | Ray-Grass d'Italie | Diploïde | Lusignan | Lattice |
| | Fétuque des prés | Diploïde | Lusignan | Lattice |
| | Fétuque élevée | Allohexaploïde | Cl. Ferrand | Split-plot |
| | Fléole | Autohexaploïde | Lusignan | Split-plot |
| Légumineuses (Pollinisation entomophile) | Trèfle violet(*) | Diploïde | Dijon | Split-plot |
| | Luzerne | Autotétraploïde | Lusignan<br>Montpellier | Lattice |

(*) Auto-incompatibilité.

— Rendement brut (matière verte ou sèche) ou caractères morphologiques et agronomiques spéciaux.

Le tableau 1 indique l'implantation des expériences et les dispositifs relatifs à chaque espèce.

Pour tenter une interprétation de cet important ensemble de résultats :

— dans un premier temps, nous analyserons d'un point de vue descriptif le mode d'action des facteurs contrôlés figurant dans le groupe « actions du sélectionneur » de la figure 1 : génération de multiplication, nombre de constituants, origine du matériel de départ;

— dans un second temps, nous proposerons certains modèles explicatifs prenant en compte différents paramètres génétiques ou biologiques.

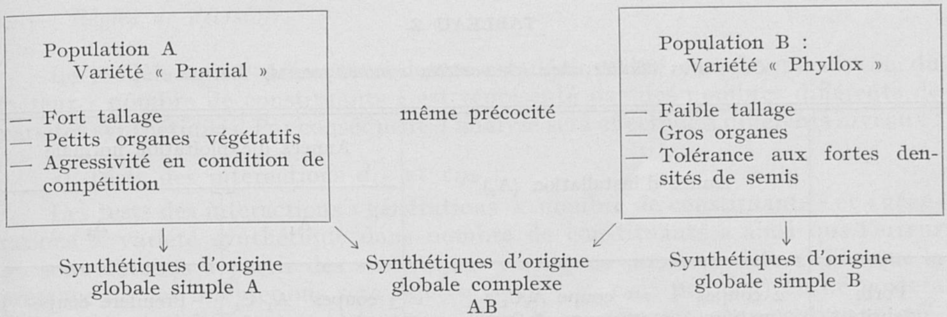
La suite de cet article est consacré à la première étape de l'analyse des résultats sur l'espèce Dactyle (*Dactylis glomerata*). Les articles suivants exposeront les résultats sur les autres espèces. Une interprétation biologique générale sera tentée pour dégager des lois utilisables par le sélectionneur.

## II. — Évolution des variétés synthétiques chez le Dactyle (*Dactylis glomerata* L.)

### I. — *Matériel et méthodes d'étude*

1. *Obtention du matériel végétal :*

La figure 2 résume les principales caractéristiques des populations de départ et les groupes de constituants qui en sont issus. A partir de ces constituants, les polycross ont été effectués en 1967 selon la méthode indiquée par GILLET (1963).




| Nombre de constituants | A | AB | B |
|---|---|---|---|
| 8 | $(a_5a_6a_7a_8a_9a_{10}a_{11}a_{12})$ | $(a_1a_2a_3a_4b_1b_2b_3b_4)$ | $(b_5b_6b_7b_8b_9b_{10}b_{11}b_{12})$ |
| 4 | $(a_1a_2a_3a_4)$ | $(a_1a_2b_1b_2)$<br>$(a_3a_4b_3b_4)$<br>$(a_1a_4b_1b_4)$<br>$(a_2a_3b_2b_3)$ | $(b_1b_2b_3b_4)$ |
| 2 | $(a_7a_8)$<br>$(a_9a_{10})$<br>$(a_{11}a_{12})$ | Descendance du diallèle(*) formé à partir de : $(a_1, a_2, b_1, b_2)$ | $(b_7b_8)$<br>$(b_9b_{10})$<br>$(b_{11}b_{12})$ |

(*) L'étude de ces descendances sera l'objet d'une publication particulière.

FIG. 2. — *Mode de formation des groupes de constituants selon leur origine et leur nombre.*

Deux générations de multiplication de la descendance de ces polycross ont été réalisées, donnant les seconde et troisième générations des variétés synthétiques (années 1968-1969).

Les trois générations de multiplication de ces variétés ont été semées en 1970, en parcelles à densité de prairies (parcelles de 1,5 m × 1,5 m; densité de 150 graines au mètre linéaire, lignes espacées de 20 cm) et en plantes isolées (espacement 0,5 m × 0,5 m). Les mesures effectuées sont notées dans le tableau 2.

Nous analyserons successivement le comportement de ces variétés synthétiques dans les conditions de compétition imposées par le semis dense, et en plantes isolées. Les caractères morphologiques des plantes isolées ont été recueillis afin d'obtenir des informations pouvant expliquer leur évolution dans une situation normale d'exploitation, c'est-à-dire en densité forte.

## 2. — *Dispositif expérimental*

Dans chacune des six répétitions du dispositif split-splot utilisé, la randomisation a été faite, dans l'ordre selon :

— le nombre de constituants (indice *i*),

TABLEAU 2

*Caractères étudiés chez les variétés synthétiques de Dactyle*

| | Année d'installation ($A_0$) | Années d'exploitation normale | |
|---|---|---|---|
| | | $A_1$ | $A_2$ |
| Forte densité | 2 coupes (matière verte) — 1<sup></sup>re coupe $A_0C_1$, 2e coupe $A_0C_2$ | 3 coupes (matière verte) — $A_1$ $C_1$, $A_1$ $C_2$, $A_1$ $C_3$ | Première coupe ($A_2$ $C_1$) |
| Plantes isolées | 1 coupe en $A_0$ $C_2$ | Une coupe en $A_1$ $C_1$ | Caractères morphologiques (époque : première coupe)<br>— diamètre des touffes<br>— hauteur des tiges<br>— longueur des feuilles |

($C_i$, $i$ de 1 à 3, représente le numéro de la coupe dans l'année d'exploitation.)

— la variété synthétique pour un nombre de constituant donné (indice $j$ hiérarchisé à $i$),

— le numéro de génération de multiplication (indice $k$).

Le modèle d'analyse est donc le suivant (modèle 1) :

$$y_{ijkb} = m + a_i + A_{i,b} + b_{j/i} + B_{ij,b} + c_k + d_{ik} + f_b + e_{ijk} + Z_{ijkb}$$

$a_i$ est l'effet du nombre de constituants,

$b_{j/i}$ est l'effet « synthétique dans nombre ». Les différentes variétés synthétiques pouvant être regroupées selon la population de départ dont elles sont issues, on parlera d'origine globale pour indiquer la nature simple (A ou B) ou complexe (AB) de cette population, et d'origine exacte pour désigner une variété synthétique particulière dans cette origine globale.

$c_k$ est l'effet de la génération de multiplication,

$d_{ik}$, $e_{ijk}$ sont respectivement les interactions « génération × nombre de constituants, et « génération × synthétique dans nombre »,

$f_b$ est l'effet bloc,

$Z_{ijkb}$ est une aléatoire normale centrée de variance $\sigma^2_e$,

$A_{i,b}$, $B_{ij,b}$ sont des aléatoires normales centrées de variance $\gamma A_i$ et $\gamma B_i$ respectivement.

Le sélectionneur est intéressé d'une part, par les caractéristiques des différentes synthétiques en première génération de multiplication, d'autre part, par leur évolution au cours des générations ultérieures. Par conséquent, il nous semble nécessaire d'imposer aux paramètres de ce modèle les conditions supplémentaires suivantes :

$$\begin{cases} c_1 = 0, \\ d_{i1} = 0, \text{ quel que soit } i, \\ e_{ij1} = 0, \text{ quels que soient } i \text{ et } j. \end{cases}$$

3. — *Règles de décision*

Le modèle mixte présenté ci-dessus est déséquilibré car chaque niveau du facteur « nombre de constituants » est représenté par des nombres différents de variétés synthétiques. Par conséquent, l'analyse sera effectuée à différents niveaux :

*a*) Tests des interactions $d_{ik}$ et $c_{ijk}$ :

Les tests des interactions « générations × nombre de constituants » et « générations × variété synthétique dans nombre de constituants » ainsi que l'erreur $\sigma^2_e$ sont obtenus à partir des statistiques classiques sur le modèle 1. Lorsque la présence de ces interactions sera rejetée (seuil 5 p. cent par test) on ne portera d'attention qu'à l'effet « génération » $c_k$. Dans le cas contraire, une analyse supplémentaire sera effectuée.

*b*) Analyse au niveau de chaque sous-bloc attribué à chaque nombre de constituants :

Pour chaque nombre de constituants, l'effet « génération » testé au seuil 5 p. cent n'est examiné qu'en absence d'interaction « génération × variété synthétique ».

En présence de cette dernière, on étudie deux effets particuliers :

— L'interaction peut provenir de caractéristiques générales de l'origine dont sont issues les variétés synthétiques. Nous examinerons spécialement :

- l'évolution de la distance entre origines simples, mesurée par le contraste $C_1 = B - A$;
- l'évolution de l'effet de diversité d'origine des constituants, mesuré par le contraste $C_2 = (AB) - \frac{1}{2}(A + B)$.

— L'interaction peut provenir de caractéristiques spécifiques à l'association de constituants au sein d'une origine globale déterminée. Ce type d'interaction mesure l'hétérogénéité de comportement des différentes variétés synthétiques de même provenance au cours des générations de multiplication. Les interactions seront analysées de la manière suivante :

$$_i\theta_{jk} = (_j\lambda_k \times b_{j/i}) + {_i\varepsilon_{jk}} \qquad \text{(modèle 2) : (voir annexe).}$$

où $_i\theta_{jk}$ est l'écart à la prédiction de type additif pour la variété synthétique $j$ de l'origine $i$ en génération $k$,
$_i\lambda_k$ est un coefficient de régression dépendant de l'origine et de la génération ($_i\lambda_1 = 0$ par construction du modèle),
$b_{j/i}$ est l'effet « synthétique dans origine » en présence d'interaction, c'est-à-dire l'effet, centré par rapport à l'origine $i$, de la synthétique $j$ en génération 1.

## II. — *Résultats des essais effectués à densité de prairie*

En annexe sont données les moyennes de générations de toutes les variétés synthétiques pour les différentes coupes.

Pour les coupes examinées, l'effet sur le rendement de la multiplication libre est toujours significatif, mais en général, cet effet dépend à la fois du nombre de constituants et de la variété synthétique examinée (tabl. 3).

TABLEAU 3

*Valeurs du F de* FISHER *dans l'analyse des modèles* (1) *et estimation de la résiduelle (données en dag de matière verte/parcelle). Les F significatifs au niveau* 0,05 *sont soulignés*

| | $A_0C_1$ | | | $A_0C_2$ | | | $A_1C_1$ | | | $A_1C_2$ | | | $A_1C_3$ | $A_2C_1$ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Modèle* (1) : | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Interaction génération × nombre de constituants . . . . | 8,62 | | | 3,04 | | | 21,8 | | | 3,88 | | | 0,256 | 3,39 | | |
| Interaction génération × origine exacte/nombre de constituants | 3,15 | | | 2,1 | | | 3,29 | | | 1,50 | | | 0,95 | 3,82 | | |
| Effet génération en absence d'interaction . . . . . . . | 89,6 | | | 2,27 | | | 20,25 | | | 13,16 | | | 3,7 | 38,7 | | |
| Nombre de constituants. . . . | 8 | 4 | 2 | 8 | 4 | 2 | 8 | 4 | 2 | 8 | 4 | 2 | | 8 | 4 | 2 |
| Effet génération en absence d'interaction . . . . . . . . . | 2,01 | 15,9 | 83 | 2,16 | 1,26 | 4,95 | 1,00 | 6,6 | 14 | 3,46 | 5,60 | 6,70 | | 4,9 | 15 | 25,6 |
| Interaction synthétique × génération . . . . . . . . . | 0,5 | 1,09 | 3,55 | 1 | 1 | 4,94 | 1 | 1,91 | 4,36 | 1 | 1 | 1,66 | | 1,25 | 2,48 | 4,06 |
| Résiduelle (estimée avec 210 ddl) | 147 | | | 135 | | | 1 610 | | | 579 | | | 150 | 1 870 | | |

Seule la coupe $A_1C_3$ révèle un effet « génération » général, mais elle participe peu au rendement total. La troisième génération de multiplication atteint le niveau de la première, alors qu'une baisse sensible se manifeste en seconde génération (*Syn 2* — *Syn 1* = — 4.16 ± 3,02 dag Mat. Verte, seuil 5 p. cent).

Dans la suite, on notera *Syn k* la moyenne de la génération *k* pour une variété ou pour un groupe de variétés examinées.

a) *Variétés synthétiques à huit constituants:*

L'évolution au cours des générations n'est sensible qu'à partir de la coupe $A_1C_2$, et ne dépend pas de la variété synthétique examinée. Selon la coupe, on observe soit une augmentation, soit une diminution de vigueur entre la *Syn 1* et la *Syn 3*, et dans les deux cas, rien ne permet de rejeter l'hypothèse d'une évolution linéaire.

Coupe $A_1C_2$ : *Syn 1* — *Syn 3* = 0.21 ± 0.16 kg Mat. Verte (seuil 5 p. cent)
Coupe $A_2C_1$ : *Syn 1* — *Syn 3* = — 0.34 ± 0.29 kg Mat. Verte (seuil 5 p. cent)

b) *Variétés synthétiques à quatre constituants* :

L'effet de la génération de multiplication est général lors des coupes $A_0C_1$ et $A_1C_2$, assez peu productives, mais dépend des variétés synthétiques examinées lors des premières coupes d'exploitation normale, $A_1C_1$ et $A_2C_1$ très productives.

• En $A_0C_1$ et $A_1C_2$, on observe toujours une diminution de rendement entre la *Syn 1* et la *Syn 2* avec stabilisation en *Syn 3* :

Coupe $A_0C_1$ : $Syn\ 1 - \left(\frac{Syn\ 2 + Syn\ 3}{2}\right) = 0.132 \pm 0.050$ kg Mat. Verte (5 p. cent).

Coupe $A_1C_2$ : $Syn\ 1 - \left(\frac{Syn\ 2 + Syn\ 3}{2}\right) = 0.155 \pm 0.100$ kg Mat. Verte (seuil 5 p. cent).

TABLEAU 4

*Analyse des interactions génération × variétés synthétiques à quatre constituants*

| Coupes | d.l. | $A_1C_1$ | | $A_2C_1$ | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | C.M. | F | C.M. | F |
| Interaction génération × v.s. | 10 | 0.307 | 1.91 (*) | 0.463 | 2.48 (*) |
| $C_1$ × génération | 2 | 0.312 | 1.96 | 0.864 | 4.05 (*) |
| $C_2$ × génération | 2 | 0.264 | 1.66 | 0.318 | 1.71 |
| Variation intra-origine AB × génération | 6 | 0.318 | 1.98 | 0.168 | 0.91 |
| Erreur | 210 | 0.161 | | 0.187 | |

(*) F significatif à 5 p. cent.
C.M. : Carrés moyens exprimés en kg de matière verte.

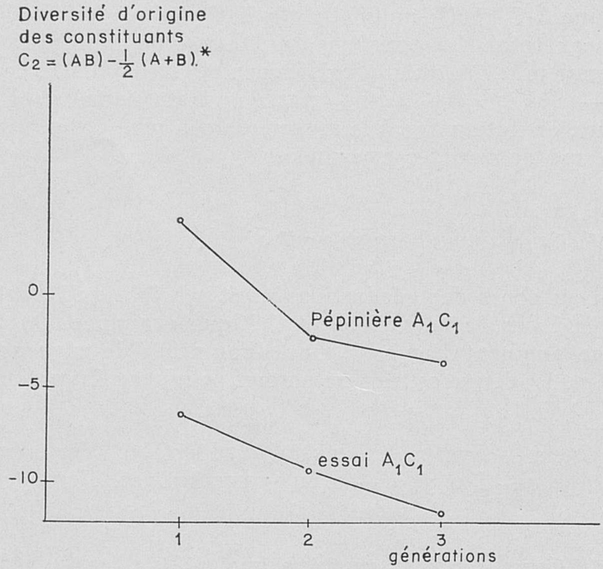



FIG. 3*a*. — *Variétés synthétiques à deux constituants. Évolution au cours des générations de l'effet de la diversité d'origine des constituants pour le rendement mesuré en essai et en pépinière.*

* Exprimé, pour chaque caractère, en écart-type d'une moyenne « origine × génération ».

• Les interactions synthétiques × génération, significatives en $A_1C_1$ et $A_2C_1$ semblent surtout dues à l'évolution différentielle des origines A et B au cours des générations de multiplication (tabl. 4).

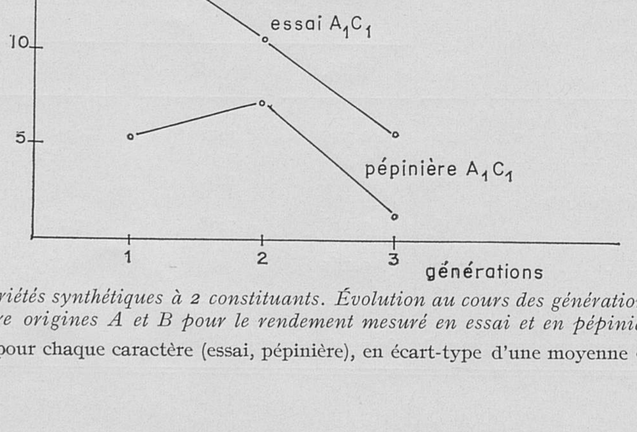



FIG. 3*b*. — *Variétés synthétiques à 2 constituants. Évolution au cours des générations de la distance entre origines A et B pour le rendement mesuré en essai et en pépinière.*

* Exprimé, pour chaque caractère (essai, pépinière), en écart-type d'une moyenne « origine × génération ».

TABLEAU 5

*Analyse des interactions variétés synthétiques × génération chez les variétés synthétiques à deux constituants*
(les F significatifs au seuil 5 p. cent sont soulignés)

| Source de variation | d.d.l | $A_0C_1$ | | $A_0C_2$ | | $A_1C_1$ | | $A_1C_2$ | | $A_2C_1$ | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | C.M.(+) | *f*(++) | C.M. | *f* | C.M. | *f* | C.M. | *f* | C.M. | *f* |
| Origine globale × génération | 4 | | | | | | | | | | |
| — $C_1$ × génération . . . . . | 2 | 0,1728 | 11,71 | 0,0510 | 3,79 | 1,788 | 11,14 | 0,0066 | 0,12 | 0,648 | 3,48 |
| — $C_2$ × génération . . . . | 2 | 0,0114 | 0,76 | 0,0042 | 0,31 | 0,630 | 3,92 | 0,4362 | 7,54 | 1,104 | 5,92 |
| Synthétique × génération / Origine . . . . . . . . . . . | 18 | | | | | | | | | | |
| — Origine A . . . . . . . . | 6 | 0,0681 | 4,34 | 0,0396 | 2,93 | 1,332 | 8,27 | 0,1610 | 2,78 | 1,316 | 7,04 |
| — Origine B. . . . . . . . . | 6 | 0,0265 | 1,80 | 0,0173 | 1,28 | 0,294 | 1,82 | 0,0220 | 0,38 | 0,834 | 4,46 |
| — Origine AB . . . . . . . | 6 | 0,0363 | 2,47 | 0,0212 | 1,57 | 0,143 | 0,89 | 0,0225 | 0,39 | 0,510 | 2,73 |
| Erreur . . . . . . . . . | 210 | 0,0147 | | 0,0135 | | 0,1610 | | 0,0579 | | 0,1870 | |

(+) = Carré moyen, exprimé en kg Mat. Verte/parcelle.
(++) = Statistique de FISHER.

c) *Variétés synthétiques à deux constituants* :

Pour toutes les coupes, sauf $A_1C_2$, l'évolution au cours des générations dépend de la variété synthétique considérée. Le tableau 5 analyse ces interactions en prenant en compte l'origine des constituants.

L'effet de la diversité d'origine des constituants, mesuré par le contraste $C_2$, est nul lors de l'année d'installation, et devient décroissant linéairement au cours des générations à partir de la coupe $A_1C_1$ (tabl. 6, fig. 3*a*). La différence de rendement entre variétés synthétiques d'origine A et d'origine B apparaît dès la première

TABLEAU 6

*Effets de la diversité d'origine des constituants et de la « distance » entre origines de départ Variétés synthétiques à deux constituants (données en kg de matière verte par parcelle)*

| Coupes | $A_0C_1$ | $A_0C_1$ | $A_1C_1$ | $A_2C_1$ | $A_1C_2$ |
|---|---|---|---|---|---|
| $C_1 = B - A$ : | | | | | |
| Générations 1 . . . . | 0,29 | 0,18 | 1,25 | 0,73 | NS |
| 2 . . . | 0,14 | 0,08 | 0,88 | 0,51 | NS |
| 3 . . . | 0,00 | 0,06 | 0,47 | 0,26 | NS |
| $C_2 = (AB) - \frac{1}{2}(A + B)$ : | | | | | |
| Générations 1 . . . . | NS | NS | — 0,51 | — 0,67 | 0,08 |
| 2 . . . | NS | NS | — 0,75 | — 0,91 | 0,04 |
| 3 . . . | NS | NS | — 0,91 | — 1,19 | 0,00 |

coupe, mais s'amenuise, pour chaque coupe, quasi-linéairement au cours des générations de multiplication (fig 3*b*).

Au sein d'une même origine, les variétés synthétiques peuvent réagir très différemment à la multiplication sexuée, mais le modèle 2 (voir ci-dessus) se révèle efficace et en particulier lorsque les interactions génération $\times$ variétés synthétiques sont très fortes (coupe $A_1C_1$ et $A_2C_1$ pour l'origine A). Une part importante des hétérogénéités de comportement entre variétés de même origine est donc expliquée par les mérites spécifiques des associations réalisées en première génération et par un effet particulier des origines (tabl. 7*a* et 7*b*).

## III. — *Résultats des essais effectués à densité de plantes isolées*

Les parcelles du dispositif installé à densité de plantes isolées comprenaient 20 plantes. En $A_0C_2$ et $A_1C_1$, elles ont été récoltées et pesées plante à plante. La moyenne et l'écart type (après transformation Log) de chaque parcelle ont été analysées. En année $A_2$, la hauteur des tiges à l'épiaison, la longueur des feuilles et

TABLEAU 7*a*

*Essai à densité « prairie ». Analyse des interactions génération × synthétiques/origine chez les variétés synthétiques à deux constituants (modèle 2). Valeurs des statistiques* F *de* FISHER

| | d.d.l. | $A_0$ $C_1$ | $A_0$ $C_2$ | $A_1$ $C_1$ | $A_1$ $C_2$ | $A_2$ $C_1$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Origine A : | | | | | | |
| — Régression moyenne | 1 | 9,16 (**) | 10,01 (**) | 40,49 (**) | 0,35 | 31,28 (**) |
| — Hétérogénéité entre régressions | 1 | 0,67 | 1,48 | 6,92 (**) | 0,00 | 2,42 |
| — Résidu | 4 | 4,46 (**) | 1,51 | 0,55 | 2,68 (*) | 2,12 |
| Origine AB : | | | | | | |
| — Régression moyenne | 1 | 6,44 (**) | | | | 9,88 (**) |
| — Hétérogénéité entre régressions | 1 | 0,67 | § | § | § | 1,07 |
| — Résidus | 4 | 1,91 | | | | 1,35 |
| Origine B : | | | | | | |
| — Régression moyenne | 1 | | | | | 7,71 (**) |
| — Hétérogénéité entre régressions | 1 | § | § | § | § | 4,38 (*) |
| — Résidus | 4 | | | | | 3,66 (**) |

(*) F significatif à 5 p. cent.
(**) F significatif à 1 p. cent.
§ : Interactions génération × Var. synth. non significative.

la circonférence des touffes ont été mesurées à partir d'échantillon de 10,5, 5 plantes prises au hasard dans ces parcelles, respectivement. En annexe les moyennes des générations de toutes les variétés synthétiques sont données pour les différents caractères étudiés.

a) *Rendement moyen par plante*

• L'effet génération de multiplication n'est significatif que chez les synthétiques à deux constituants, et dépend de la synthétique considérée (tabl. 8).

• La différence entre synthétiques à deux constituants d'origine A et B n'évolue de manière significative au cours des générations qu'en $A_1C_1$, et on observe alors une diminution brutale de la Syn 2 à la Syn 3 (tabl. 11, fig. 3*b*).

Contraste $C_1$ : $\text{Syn } 3 - \left(\frac{\text{Syn } 1 + \text{Syn } 2}{2}\right) = -8.16 \pm 7.08$ (seuil 1 p. cent) en $A_1C_1$.

L'avantage des synthétiques d'origine mixte (AB) sur celles d'origine pure

TABLEAU 7*b*

*Valeurs des paramètres dans l'analyse des interactions synthétiques × génération :*
$\text{Syn } k_{i/j} - \text{Syn } 1_{i/j} = a_k + {}_i\lambda_k\, b_{j/i} + {}_i\varepsilon_{jk}$

| | Origines | E (Syn $2_{ij}$) — E (Syn $1_{ij}$) | E (Syn $3_{ij}$) — E (Syn $1_{ij}$) |
|---|---|---|---|
| Coupe $A_0C_1$ | A | — 0,186 — 0,581 $b_{j/i}$ + ${}_i\varepsilon_{jk}$ | — 0,581 $b_{j/i}$ + ${}_i\varepsilon_{jk}$ |
| | AB | — 0,248 — 2,531 $b_{j/i}$ | — 0,137 — 2,531 $b_{j/i}$ |
| | B | — 0,385 | — 0,305 |
| Coupe $A_0C_2$ | A | — 0,841 $b_{j/i}$ | — 0,841 $b_{j/i}$ |
| | AB | — 0,073 | 0 |
| | B | — 0,085 | — 0,034 |
| Coupe $A_1C_1$ | A | — 0,571 $b_{j/i}$ | 0,650 — 0,930 $b_{j/i}$ |
| | AB | — 0,375 | 0 |
| | B | — 0,327 | 0 |
| Coupe $A_2C_1$ | A | — 0,702 $b_{j/i}$ | 0,835 — 0,702 $b_{j/i}$ |
| | AB | — 1,021 $b_{j/i}$ | 1,021 $b_{j/i}$ |
| | B | 0,323 $b_{j/i}$ | 0,367 — 0,823 $b_{j/i}$ + ${}_i\varepsilon_{jk}$ |

REMARQUE. — Ne figurent dans ce tableau que les paramètres significativement différents de zéro, afin de faciliter la lecture des résultats. Les formules obtenues sont donc biaisées.

(A) et (B) décroit brutalement de Syn1 en Syn2, et l'évolution ultérieure n'est pas significative : (tabl. 11, fig. 3*a*).

$$\text{Contraste } C_2 : \frac{\text{Syn } 3 + \text{Syn } 2}{2} - \text{Syn } 1 = 16.02 \pm 14.73 \text{ (seuil 1 p. 100)}$$

en $A_0C_2$

$$\text{Syn } 2 - \text{Syn } 3 = 1.57 \pm 17.06 \text{ (seuil 1 p. 100)}$$

• A l'intérieur des origines globales, les interactions synthétiques à deux constituants × génération ne sont significatives que pour les origines pures A et B. L'utilisation du modèle (2) se révèle efficace pour analyser ces interactions en fonction du rendement moyen en première génération (tabl. 12*a*).

Le comportement moyen des synthétiques d'origine mixte peut être décrit de la façon suivante : diminution de Syn 1 et Syn 2, sans évolution significative ultérieure :

$$\begin{cases} A_0C_2 : \text{Syn}1 - \dfrac{\text{Syn } 2 + \text{Syn } 3}{2} = 20.37 \pm 12.04 \text{ dag (seuil 1 p. 100)} \\ A_1C_1 : \text{Syn } 1 - \dfrac{\text{Syn } 2 + \text{Syn } 3}{2} = 17.80 \pm 5.03 \text{ dag (seuil 1 p. 100)} \end{cases}$$

$$\begin{cases} A_0C_2 : \text{Syn } 2 - \text{Syn } 3 = 1.74 \pm 13.90 \text{ dag (seuil 1 p. 100)} \\ A_1C_1 : \text{Syn } 2 - \text{Syn } 3 = 3.74 \pm 5.81 \text{ dag (seuil 1 p. 100).} \end{cases}$$

TABLEAU 8

*Essai à densité de plantes isolées — Valeur des F de* FISHER *et estimation des résiduelles dans l'analyse du modèle 1*
*(Les F significatifs à 5 p. cent sont soulignés) — Rendement moyen et dispersion intraparcellaire* (20 plantes par parcelles)

| Modèle (1) | Pépinière $A_0C_2$ | | | | Pépinière $A_1C_1$ | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Moyenne de la parcelle (dag/plante) | | | Écart type (tranf. Log.) | Moyenne de la parcelle (dag/plante) | | | Écart type (tranf. Log.) | | |
| *a)* | | | | | | | | | | |
| Interaction génération × nombre de constituants . . . . . . . | | 4,85 | | 0,75 | | 5,45 | | | 7,08 | |
| Interaction génération × synthétique/nombre . . . . . . . . | | 1,60 | | 1,28 | | 2,91 | | | 1,21 | |
| Effet génération en absence d'interaction. . . . . . . . | | 30,96 | | 1,00 | | 45,51 | | | 2,36 | |
| Nombre de constituants . . . . | 8 | 4 | 2 | | 8 | 4 | 2 | 8 | 4 | 2 |
| *b)* | | | | | | | | | | |
| Effet génération en absence d'interaction. . . . . . . . . | 3.33 | 0,69 | 32,03 | | 1,61 | 2,78 | 52,08 | 1,98 | 1,38 | 12,71 |
| Interaction génération × synthétique . . . . . . . . . . | 0,70 | 1,04 | 2,37 | | 0,39 | 1,45 | 4,02 | NS | NS | NS |
| Erreur résiduelle (estimée avec 210 d.d.l.). . . . . . . . . . | | 350,34 | | 0,0382 | | 61,20 | | | 0,1439 | |

TABLEAU 9

*Essai à densité de plantes isolées — Valeur des F de* FISHER *et estimation des résiduelles dans l'analyse du modèle 1*
*(Les F. significatifs à 5 p. cent sont soulignés) — Caractères morphologiques*

| Modèle (1) | Circonférence des touffes (cm) | | | Longueur des feuilles (cm) | | | Hauteur d'épiaison (cm) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *a)* | | | | | | | | | |
| Interaction génération × nombre de constituants | | 2,88 | | | 1,38 | | | 3,18 | |
| Interaction génération × synthétique / nombre | | 1,26 | | | 1,54 | | | 3,21 | |
| Effet génération en absence d'interaction | | 4,84 | | | 0,33 | | | 3,93 | |
| Nombre de constituants | 8 | 4 | 2 | 8 | 4 | 2 | 8 | 4 | 2 |
| *b)* | | | | | | | | | |
| Effet génération en absence d'interaction | 0,27 | 0,16 | 10,38 | 1,37 | 0,03 | 1,70 | 2,10 | 1,09 | 7,09 |
| Interaction synthétique × génération | 1,25 | 1,38 | 1,18 | 1,54 | 0,78 | 1,88 | 0,87 | 1,63 | 4,31 |
| Résiduelle : | | | | | | | | | |
| — Nombre de degrés de liberté | | 170 (6 blocs) | | | 169 (5 blocs) | | | 126 (4 blocs) | |
| — Estimation | | 22,98 | | | 8,33 | | | 21,83 | |

TABLEAU 10

*Analyse des interactions variétés synthétiques à deux constituants × génération. Caractères mesurés sur essai à plantes isolées (les F significatifs à 5 p. cent sont soulignés)*

| Source de variation | Rendement pépinière $A_0C_2$ (dag M.V.) | | | Rendement pépinière $A_1C_1$ (dag M.V.) | | | Longueur des feuilles (cm) | | | Hauteur d'épiaison (cm) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | d.d.l. | C.M. | F | d.d.l. | C.M. | F | d.d.l. | C.M. | F | d.d.l. | C.M. | F |
| Origine globale × génération . . . . | 4 | | | | | | | | | | | |
| • $C_1$ × génération | 2 | 1 097,9 | 2,90 | 2 | 293,5 | 4,80 | 2 | 86,9 | 10,43 | 2 | 30,41 | 1,39 |
| • $C_2$ × génération | 2 | 1 594,2 | 4,55 | 2 | 665,9 | 10,89 | 2 | 4,71 | 0,26 | 2 | 64,28 | 2,94 |
| Synthétique × génération / Origine . . . | 18 | | | | | | | | | | | |
| • Origine A . . . | 6 | 433,97 | 1,23 | 6 | 385,4 | 6,29 | 6 | 21,21 | 2,54 | 6 | 154,6 | 7,08 |
| • Origine B . . . | 6 | 1 505,44 | 4,29 | 6 | 133,39 | 2,17 | 6 | 4,31 | 0,52 | 6 | 115,7 | 5,30 |
| • Origine AB . . | 6 | 244,26 | 0,69 | 6 | 64,6 | 1,05 | 6 | 1,46 | 0,18 | 6 | 43,61 | 1,99 |
| Erreur résiduelle . . | 210 | 350,34 | | 210 | 61.20 | | 168 | 8,33 | | 126 | 21,83 | |

b) *Écart type intra-parcellaire*

Seul un effet général de la génération de multiplication est mis en évidence chez les variétés à deux constituants, en $A_1C_1$ (tabl. 8). Il y a augmentation de l'écart type (transformation Log) au cours des générations.

c) *Caractères morphologiques*

c.1. — *Circonférence des touffes*

L'effet génération n'est significatif que chez les synthétiques à deux constituants, et est indépendant de la synthétique considérée. On observe une diminution de Syn 1 en Syn 2 et la Syn 3 est du niveau de la Syn 1 :

Synthétiques à deux constituants

$$\begin{cases} \text{Syn } 2 - \left(\dfrac{\text{Syn } 1 + \text{Syn } 3}{2}\right) = -\,3.54 \pm 2.05 \text{ cm (seuil 1 p. 100)} \\ \text{Syn } 1 - \text{Syn } 3 = 0.83 \pm 2.37 \text{ cm (seuil 1 p. 100)} \end{cases}$$

Ce caractère différenciait les origines (A) et (B) *a priori* (fig. 2). Aucune interaction n'étant retenue cette différence apparaît stable au cours des générations : (A) — (B) = 3.76 ± 2.52 cm (seuil 1 p. 100).

c.2. — *Longueur des feuilles*

- L'effet de la génération de multiplication n'est mis en évidence que de manière spécifique à chaque synthétique considérée (tabl. 8), chez les synthétiques à deux constituants.

- L'effet de la diversité d'origine (contraste $C_2$) est stable au cours des générations (tabl. 10) et intervient négativement (tabl. 11).

TABLEAU 11

*Effet de la diversité d'origine des constituants et de la « distance » entre origines de départ*
*Variétés synthétiques à deux constituants — Essais en plantes isolées*

| Caractères | Rendement pépinière (dag) $A_0C_2$ | Rendement pépinière (dag) $A_1C_1$ | Longueur des feuilles (cm) |
|---|---|---|---|
| $C_1$ = B — A | | | |
| Générations 1 . . . | 20,17 pour toute génération | 8,80 | 9,44 |
| 2 . . . | | 11,79 | 7,78 |
| 3 . . . | | 2,13 | 3,71 |
| $C_2 = AB - \frac{1}{2}(A + B)$ | | | |
| Générations 1 . . . | 16,63 | 6,40 | — 2,23 pour toute génération |
| 2 . . . | 0,18 | — 3,24 | |
| 3 . . . | — 1,39 | — 5,84 | |

TABLEAU 12*a*

*Analyse des interactions génération × variétés synthétiques/origine. Variétés à deux constituants (Modèle 2)*

| | d.d.l. | Rendement Pépinière $A_0C_1$ | Rendement Pépinière $A_1C_1$ | Longueur feuilles | Hauteur épiaison |
|---|---|---|---|---|---|
| Origine A : | | | | | |
| — Régression moyenne . . . | 1 | | 22,78 (**) | 5,73 (*) | 19,14 (**) |
| — Hétérogénéité entre régressions . . . . . . . . . | 1 | § | 12,19 (**) | 4,89 (*) | 16,17 (**) |
| — Résidus . . . . . . . . . | 4 | | 0,70 | 1,16 | 4,79 (**) |
| Origine B : | | | | | |
| — Régression moyenne . . . | 1 | 16,12 (**) | 5,26 (*) | | 11,82 (**) |
| — Hétérogénéité . . . . . . | 1 | 4,11 (**) | 3,55 (1) | § | 2,55 |
| — Résidus . . . . . . . . . | 4 | 1,38 | 1,06 | | 4,35 (**) |

(**) F. significatifs à 1 p. cent.
(*) F. significatif à 5 p. cent.
(1) F. significatif à 10 p. cent.
§ : Interactions non significatives (cf. tabl. 10).

TABLEAU 12*b*

*Analyse des interactions synthétiques × génération dans origine globale Valeurs des coefficients de régression* ${}_i\lambda_k$ *dans le modèle 2*

| | Origines | E (Syn $2_{ij}$ — Syn $1_{ij}$) | E (Syn $3_{ij}$ — Syn $1_{ij}$) |
|---|---|---|---|
| Rendement pépinière $A_0C_2$ (dag M. v.) | | | 0 |
| | A | — 20,50 | — 21,24 — 0,96 $b_{j/i}$ |
| | B | — 19,50 — 0,53 $b_{j/i}$ | — 31,55 |
| | AB | — 36,45 | |
| Rendement pépinière $A_1C_1$ (dag M. v. | A | — 11,53 — 0,57 $b_{j/i}$ | — 1,39 $b_{j/i}$ |
| | AB | — 8,54 — 0,44 $b_{j/i}$ | — 7,02 — 1,22 $b_{j/i}$ |
| | AB | — 19,68 | — 15,93 |
| Longueur feuilles (cm) | A | 0,27 $b_{j/i}$ | — 2,48 — 1,15 $b_{j/i}$ |
| | B | — 1,44 | — 3,25 |
| | AB | — 1,47 | — 1,53 |
| Hauteur d'épiaison (cm) | B | — 0,85 $b_{j/i} + {}_i\varepsilon_{jk}$ | — 0,85 $b_{j/i} + {}_i\varepsilon_{jk}$ |
| | A | — 2,32 — 0,33 $b_{j/i} + {}_i\varepsilon_{jk}$ | + 2,85 — 0,69 $b_{j/i} + {}_i\varepsilon_{jk}$ |
| | AB | — 5,78 | 0 |

L'évolution de la distance entre origines de départ est analogue à celle qui avait été observée pour le rendement moyen (tabl. 11).

Les interactions synthétiques × génération à l'intérieur de l'origine A sont bien analysées par le modèle 2 et sont donc expliqués en majeure partie par les différences entre synthétiques pour ce caractère en Syn 1.

c.3. *Hauteur des tiges à l'épiaison*

Si l'effet « génération de multiplication » n'est mis en évidence que chez les synthétiques à deux constituants (tabl. 9), il semble n'y jouer un rôle que de manière très spécifique car d'une part les interactions origine globale × génération ne sont pas significatives (tabl. 10), d'autre part les interactions synthétiques × génération à l'intérieur des origines globales sont très mal analysées par le modèle (2) qui était cependant efficace pour la majeure partie des caractères examinés (tabl. 12*a*).

## IV. — Discussion — Conclusion

L'objet de ce paragraphe n'est pas de proposer des explications biologiques et génétiques, mais de tenter de décrire de manière assez globale les phénomènes observés.

Aux deux densités étudiées (densité de prairies et plantes isolées), la description du comportement d'une variété synthétique particulière au cours des générations de multiplication semble requérir une connaissance d'autant plus précise du matériel biologique que le nombre de constituants est faible. Alors qu'on peut parler du comportement moyen des synthétiques à huit ou quatre constituants sans faire référence à l'origine de leurs constituants, il est nécessaire de spécifier l'origine globale d'une synthétique à deux constituants et souvent même la valeur de l'association réalisée en première génération de multiplication.

### *Variétés synthétiques à 8 et à 4 constituants*

Une part importante des variations de vigueur observées à densité de prairie au cours des générations de multiplication permet d'ores et déjà d'être imputée à des différences entre générations de réaction à la compétition, car il n'y a pas d'effet « génération » à densité de plantes isolées.

### *Variétés à deux constituants*

Aux deux densités étudiées, la valeur moyenne de la combinaison entre constituants d'origines différentes décroît au cours des générations de multiplication par rapport à la valeur moyenne des combinaisons réalisées entre constituants de

même origine. Cependant, alors que la décroissance se fait de manière quasi linéaire à densité de prairie, elle se fait en une seule fois entre la Syn 1 et la Syn 2 à densité de plantes isolées.

L'évolution relative des synthétiques d'origine A et B peut être décrite comme une convergence pour le rendement au cours des générations de multiplication; convergence qui se manifesterait plus « tôt » (dès la Syn 2) à densité de prairies qu'à densité de plantes isolées (Syn 3).

Au sein d'une origine globale, la spécificité de comportement d'une variété particulière au cours des générations dépend de la densité. Cependant, d'une manière générale, les écarts au comportement moyen de l'origine sont liés à l'écart entre la valeur de la synthétique particulière en Syn 1 et la valeur moyenne de l'origine en Syn 1. Les estimations obtenues en utilisant le modèle 2 pour les coefficients $\lambda_{i_2}$ et $\lambda_{i_3}$ donnent le renseignement suivant : plus la valeur d'une synthétique en Syn 1 s'écarte, dans les faibles (resp. fortes) valeurs, de la moyenne, plus une prédiction fondée sur les effets moyens sous-estimera (resp. surestimera) sa valeur en Syn 2 et Syn 3. Ce phénomène est mis en évidence pour le rendement à faible et forte densité aussi bien que pour le caractère morphologique « longueur de feuilles ».

Dans l'interprétation finale des résultats, il conviendra de faire la part des aléas de la multiplication sexuée et des phénomènes de compétition dans les écarts entre les différents types d'évolution observés et les prévisions théoriques fondées sur le développement de la consanguinité au cours des générations de multiplication.

*Reçu pour publication en juin 1976.*

## Summary

*Experimental study of vigour of synthetic varieties in advanced generations.*
*I. — Methods. II. — Results obtained on Cocksfoot*

On seven forage crop species, the yield and other characters of experimental synthetic varieties were studied in three advanced generations for a varying number of parents (2, 4, 8) issued from one or two origins A and B. In this paper we present only the general design and statistical results obtained on Cocksfoot (*Dactylis glomerata*).

Three generations of twenty one synthetics were grown during three years at sward density and in nursery where length of leaves, heading height, and basal tuft area were measured.

I. — *Results*

1. — *Sward density*

a) *Eight parent synthetics :*

No specific effect of generation was detected after the first year of growing, and the yield increases or decreases in advanced generations according to the harvest and the year of growing.

b) *Four parent synthetics :*

Interaction " generation × synthetic " is significant for the higher yielding harvests. For other characters, the yield decreases between first and second generation only.

c) *Two parent synthetics :*

The mean value of two origin synthetics is linearly decreasing for successive generations in comparison with the mean value of one origin synthetics, as the average difference between one origin A synthetics and one origine B synthetics.

Within origin, interaction " generation × synthetic " is generally significant but could be explained by the differential value of first generation-synthetic in the origin. Data fit well a regression model with particular side conditions on parameters.

2. *Nursery (spaced plants)*

For the yield per plant, generation effects are significant only on the two parent synthetics, and they are specific effects. The analysis of interactions gives the same results as sward density, with a few changes.

The variability for yield within plot increases in advanced generations in two parents synthetics.

For the morphological characters, changes in advanced generations are significant only on the two parent synthetics. The basal tuft area decreases between first and second generation, and increases after. The average difference between length of leaves of one origin A synthetics and one origin B synthetics is decreasing for successive generation as the yield in nursery. Variations for heading height in advanced generations are very specific.

### II. — *Conclusion*

As the number of parents decreases, the number of parameters involved in the description of evolution in advanced generations of synthetics increases. For two parents synthetics, predicting from the average effects of generations will over-or under-estimate value of Syn 3 according to the high or low level of yield in Syn 1, respectively.

The biological interpretation of results and of the differences between sward and spaced plants densities will be published in another paper.

## Références bibliographiques


BEDDOWS A. R., 1959. The effect of varying the number of parent plants on the behavior of synthetic varieties. *Rep. Welsh Plant Breed. Station*, p. 21-25.

BUSBICE THAD M., 1970. Predicting yield of synthetic varieties. *Crop Sci.*, **10**, 265-269.

BUSBICE T. H., GURGIS R. Y., 1974. Methods of breeding forage varieties based on the coefficient of inbreeding. *Proc.* **12***th Intern. Grassl. Congr.*, Moscow.

CADIC A., 1971. Les principaux problèmes posés par la création des variétés synthétiques chez les plantes fourragères. 1. Revue bibliographique. 2. Compte rendu d'une expérience menée à Lusignan sur l'espèce *Dactylis glomerata. Mémoire de fin d'études E.N.S.A. Rennes.*

CARNAHAN H. L., 1960. A comparison of 1st and 2nd synthetic generation forage yields of Ladino white clover in association with Bromegrass. *Agron. J.* **52,** (302-303).

CLAVIER C., 1964. Le problème des variétés fourragères synthétiques. Leur création et leur maintien. *Fourrages*, **20**, 16-33.

CORKILL L., 1956. The basis of synthetic strains of cross pollinated grasses. *Proc.* **7***th. Inter. Grassland Congr.*, Palmerston North, N.Z., 427-438.

GALLAIS A., 1967. Evolution de la vigueur des variétés synthétiques diploïdes au cours des générations de multiplication. I. En panmixie, influence du nombre de parents et du coefficient de consanguinité de départ. *Ann. Amélior. Plantes*, **17**, 291-301.

GALLAIS A., 1968. Évolution de la vigueur des variétés synthétiques tétraploïdes au cours des générations de multiplication. I. En régime de panmixie. *Ann. Amélior. Plantes*, **18**, 5-15.

GALLAIS A., 1971. *a*) Nouvelle contribution à l'étude de la vigueur des variétés synthétiques tétraploïdes dans le cas de panmixie. *Ann. Amélior. Plantes*, **21**, 141-168.

GALLAIS A., 1971. *b*) Évolution de la vigueur des variétés synthétiques diploïdes au cours des générations de multiplication. III. Influence de l'épistasie et du linkage, dans le cas de panmixie et de croisement préférentiel. *Ann. Amélior. Plantes*, **21**, 343-371.

GALLAIS A., 1973. Some factors affecting the strategy of breeding for yield in cross fertilized forage plants. *Proc.* **1***st Meting Section Eucarpia " Biometrics in Plant Breeding "* Ed. H., Rundifeldt and G. Wricke, Hannover, 20-22 feb. 1973, p. 9-19.

GALLAIS A., 1974 *a*). Selection among synthetics. *Theor. appl. Genet.*, **44**, 24-30.
GALLAIS A., 1974 *b*). Prediction of vigour and choice of parents for a synthetic varieties. *7th Congr. Eucarpia, Heterosis in Plant Breeding*, Budapest, 25-29 juin 1974, Ed. Acad. Sci. Hongrie, 1976, 319-321.
GALLAIS A., 1975. Prévision de la vigueur et sélection des parents d'une variété synthétique. *Ann. Amélior. Plantes*, **25**, 233-264.
GILLET M., 1963. Un plan systématique de polycross pour les nombres de base pairs. *Ann. Amélior. Plantes*, **13**, 269-276.
GUY P., 1970 *a*). Structure génotypique d'un hybride autotétraploïde multiplié en panmixie. I. Expression théorique des principaux paramètres et de la structure génotypique d'une plante et d'une population hybride. *Ann. Amélior. Plantes*, **20**, 263-295.
GUY P., 1970 *b*). in *Travaux de la Station d'Amélioration des Plantes fourragères de Lusignan* (I.N.R.A.), 1962-1968, p. 28.
KEHR W. R., GRAUMANN M. O., LOWE C. C., GARDNER C. O., 1961. The performance of Alfalfa synthetics in the first and advanced generations. *Univers. Nebraska, Res. Bull.* 200.
KIESSELBACH T. A., 1960. Performance of advanced generations Corn hybrids. *Agron. J.*, **52**, 29-32.
KINMAN M. L., SPRAGUE J. F., 1945. Relation between number of parental lines and theoretical performance of synthetic varieties of Corn. *J. Amer. Soc. Agron.*, **37**, 341-351.
NEAL N. P., 1935. The decrease in yielding capacity in advanced generations of hybrid Corn. *J. Amer. Soc. Agron.*, **27**, 666-670.
PEARSON L. C., ELLING L. J., 1961. Predicting synthetic varietal performance in Alfalfa from clonal cross data. *Crop Sci.*, **1**, 263-266.
SCHEFFE, 1959. *The Analysis of variance.* J. Wiley, New-York, 477 p.

## Annexe

### I. — *Quelques précisions sur le modèle 2 (analyse des interactions génération × synthétiques)* :

Compte tenu des conditions supplémentaires utilisées, ${}_i\theta_{jk}$ écart à la prévision de type additif pour la variété synthétique $j$ de l'origine $i$ en génération $k$, s'écrit :

$${}_i\theta_{jk} = \text{Syn } k_{ij} - \text{Syn } k_{i.} - \text{Syn } 1_{ij} + \text{Syn } 1_{i.}$$

$$b_{j/i} \text{ est estimé par Syn } 1_{ij} - \text{Syn } 1_{i.}$$

Le modèle 2 revient donc à écrire :

$$\text{Syn } k_{ij} - \text{Syn } k_{i.} = (1 + {}_i\lambda_k)\ (\text{Syn } 1_{ij} - \text{Syn } 1_{i.})$$

— Pour les valeurs de ${}_i\lambda_k$ supérieures à — 1, les classements des synthétiques en génération $k$ et en génération 1 sont identiques. Selon la position de ${}_i\lambda_k$ par rapport à 0, les différences entre synthétiques seront amoindries ou amplifiées au cours des générations de multiplication.

— Si ${}_i\lambda_k$ est inférieur à — 1, le classement est inversé, et ce modèle est donc assez restrictif puisqu'il ne prend pas en compte les modifications ponctuelles de classement. Son utilisation revient à faire l'hypothèse qu'au sein d'une origine génétique déterminée, les différentes synthétiques évoluent selon un même processus, hypothèse que tout généticien sera tenté de faire dans un premier temps au moins.

### 2. — *Tableaux des moyennes des différentes synthétiques pour les trois générations*

a) *Moyennes pour l'Essai à forte densité (même présentation pour toutes les coupes)*

*Coupe* $A_0C_1$ (*en kg Matière verte* = MV).

| | Syn 1 | Syn 2 | Syn 3 | Syn 2 / Syn 1 | Syn 3 Syn 1 | Origine | Nombre de constituants |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1,1333 | 1,0666 | 1,0666 | 0,9411 | 0,9411 | AB | |
| | 0,8083 | 0,8166 | 0,7833 | 1,0103 | 0,9690 | A | 8-Syn |
| | 0,9916 | 0,8833 | 0,8458 | 0,8907 | 0,8529 | B | |
| $a_1a_2b_1b_2$ | 1,0041 | 0,8916 | 0,8041 | 0,8879 | 0,8008 | | |
| $a_2a_3b_2b_3$ | 1,1291 | 0,9208 | 0,9500 | 0,8154 | 0,8413 | | |
| $a_3a_4b_3b_4$ | 1,2333 | 1,0000 | 1,1291 | 0,8108 | 0,9155 | AB | |
| $a_1a_4b_1b_4$ | 1,0791 | 0,9500 | 0,9875 | 0,8803 | 0,9150 | | 4-Syn |
| $a_1a_2a_3a_4$ | 0,8208 | 0,7249 | 0,8416 | 0,8832 | 1,0253 | A | |
| $b_1b_2b_3b_4$ | 1,3791 | 1,2041 | 1,3083 | 0,8731 | 0,9486 | B | |
| $a_1a_2$ | 0,7541 | 0,7333 | 0,9791 | 0,9723 | 1,2983 | | |
| $a_1b_2$ | 0,9750 | 0,7999 | 1,0333 | 0,8205 | 1,0598 | | |
| $a_1b_1$ | 1,0541 | 0,6750 | 0,7916 | 0,6403 | 0,7509 | | |
| $a_2b_2$ | 1,0166 | 0,8375 | 0,8666 | 0,8237 | 0,8524 | diallèle | |
| $a_2b_1$ | 0,9875 | 0,7291 | 0,7916 | 0,7393 | 0,8016 | | |
| $b_1b_2$ | 1,2124 | 0,9291 | 0,9583 | 0,7663 | 0,7903 | | |
| $a_7a_8$ | 0,8958 | 0,6208 | 0,7916 | 0,6930 | 0,8837 | | |
| $a_9a_{10}$ | 1,1250 | 0,8416 | 0,8833 | 0,7481 | 0,7851 | A | 2-Syn |
| $a_{11}a_{12}$ | 0,7249 | 0,5883 | 0,5750 | 0,7701 | 0,7931 | | |
| $b_7b_8$ | 1,1500 | 0,7833 | 0,7583 | 0,6811 | 0,6594 | | |
| $b_9b_{10}$ | 1,1500 | 0,9249 | 0,9875 | 0,8043 | 0,8586 | B | |
| $b_{11}b_{12}$ | 1,1458 | 0,6791 | 0,7333 | 0,5927 | 0,6399 | | |

*Coupe* $A_0C_2$ (*kg* MV)

| Syn 1 | Syn 2 | Syn 3 | Syn 2/Syn 1 | Syn 3/Syn 1 |
|---|---|---|---|---|
| 1,4833 | 1,4875 | 1,4166 | 1,0028 | 0,9550 |
| 1,2166 | 1,1708 | 1,0708 | 0,9623 | 0,8801 |
| 1,4499 | 1,5541 | 1,4916 | 1,0718 | 1,0287 |
| 1,3499 | 1,4166 | 1,4125 | 1,0493 | 1,0462 |
| 1,3708 | 1,4875 | 1,4291 | 1,0851 | 1,0425 |
| 1,4166 | 1,3083 | 1,4541 | 0,9235 | 1,0264 |
| 1,3749 | 1,5041 | 1,4875 | 1,0939 | 1,0818 |
| 1,2500 | 1,2000 | 1,2208 | 0,9600 | 0,9766 |
| 1,6624 | 1,5666 | 1,6708 | 0,9423 | 1,0050 |
| 1,1708 | 1,3208 | 1,4625 | 1,1281 | 1,2491 |
| 1,4416 | 1,4041 | 1,5291 | 0,9739 | 1,0606 |
| 1,4916 | 1,3666 | 1,4041 | 0,9162 | 0,9413 |
| 1,5166 | 1,4375 | 1,5416 | 0,9478 | 1,0164 |
| 1,4958 | 1,4458 | 1,3583 | 0,9665 | 0,9080 |
| 1,5916 | 1,5249 | 1,5208 | 0,9581 | 0,9554 |
| 1,4125 | 1,2791 | 1,4041 | 0,9056 | 0,9940 |
| 1,4416 | 1,4051 | 1,5249 | 1,0433 | 1,0578 |
| 1,4125 | 1,3916 | 1,3999 | 0,9852 | 0,9911 |
| 1,5791 | 1,5541 | 1,5499 | 0,9841 | 0,9815 |
| 1,4333 | 1,3958 | 1,5041 | 0,9738 | 1,0494 |
| 1,5583 | 1,3458 | 1,4499 | 0,8636 | 0,9304 |

*Coupe* $A_1C_1$ (*1 unité = 10 kg* MV)

| Syn 1 | Syn 2 | Syn 3 | Syn 2/Syn 1 | Syn 3/Syn 1 |
|---|---|---|---|---|
| 0,7466 | 0,7433 | 0,7549 | 0,9955 | 1,0111 |
| 0,6350 | 0,6441 | 0,6600 | 1,0144 | 1,0393 |
| 0,7983 | 0,7758 | 0,8041 | 0,9718 | 1,0073 |
| 0,7091 | 0,6966 | 0,7450 | 0,9822 | 1,0505 |
| 0,7441 | 0,7216 | 0,7149 | 0,9697 | 0,9608 |
| 0,7266 | 0,6841 | 0,7258 | 0,9415 | 0,9988 |
| 0,6875 | 0,7283 | 0,7341 | 1,0593 | 1,0678 |
| 0,6283 | 0,6158 | 0,6991 | 0,9801 | 1,1127 |
| 0,7866 | 0,7875 | 0,8141 | 1,0010 | 1,0349 |
| 0,5325 | 0,6216 | 0,7183 | 1,1674 | 1,3489 |
| 0,6458 | 0,6183 | 0,6591 | 0,6574 | 1,0206 |
| 0,6408 | 0,6208 | 0,6300 | 0,9687 | 0,9830 |
| 0,7025 | 0,6700 | 0,6983 | 0,9537 | 0,9940 |
| 0,7175 | 0,6475 | 0,6666 | 0,9024 | 0,9291 |
| 0,8108 | 0,7483 | 0,7750 | 0,9229 | 0,9558 |
| 0,7641 | 0,7258 | 0,7299 | 0,9498 | 0,9552 |
| 0,7041 | 0,6800 | 0,7425 | 0,9656 | 1,0544 |
| 0,6616 | 0,6533 | 0,7316 | 0,9874 | 1,1057 |
| 0,8333 | 0,8016 | 0,7875 | 0,9620 | 0,9449 |
| 0,7775 | 0,7825 | 0,8208 | 1,0064 | 1,0557 |
| 0,7408 | 0,6991 | 0,7299 | 0,9437 | 0,9853 |

*Coupe* $A_1C_2$ (*1 unité = 10 kg* MV)

| Syn 1 | Syn 2 | Syn 3 | Syn 2/Syn 1 | Syn 3/Syn 1 |
|---|---|---|---|---|
| 0,4850 | 0,4866 | 0,4816 | 1,0034 | 0,9931 |
| 0,4391 | 0,4291 | 0,4058 | 0,9772 | 0,9240 |
| 0,4350 | 0,4091 | 0,4083 | 0,9406 | 0,9386 |
| 0,4500 | 0,4408 | 0,4408 | 0,9796 | 0,9796 |
| 0,4400 | 0,4345 | 0,4475 | 0,9943 | 1,0170 |
| 0,5100 | 0,4683 | 0,4800 | 0,9182 | 0,9411 |
| 0,4958 | 0,4716 | 0,4933 | 0,9512 | 0,9949 |
| 0,4808 | 0,4863 | 0,4500 | 0,9740 | 0,9358 |
| 0,4741 | 0,4541 | 0,4625 | 0,9578 | 0,9753 |
| 0,4300 | 0,4216 | 0,4450 | 0,9806 | 1,0348 |
| 0,4566 | 0,4333 | 0,4433 | 0,9489 | 0,9708 |
| 0,4741 | 0,4491 | 0,4416 | 0,9472 | 0,9314 |
| 0,4533 | 0,4208 | 0,4158 | 0,9283 | 0,9172 |
| 0,4816 | 0,4625 | 0,4516 | 0,9602 | 0,9377 |
| 0,4391 | 0,4141 | 0,4416 | 0,9430 | 1,0056 |
| 0,4100 | 0,3725 | 0,3850 | 0,9085 | 0,9390 |
| 0,4350 | 0,4633 | 0,4775 | 1,0651 | 1,0977 |
| 0,4700 | 0,4558 | 0,4650 | 0,9698 | 0,9893 |
| 0,4058 | 0,4000 | 0,4100 | 0,9856 | 1,0102 |
| 0,4441 | 0,4400 | 0,4525 | 0,9906 | 1,0187 |
| 0,4500 | 0,4408 | 0,4450 | 0,9796 | 0,9888 |

*Coupe* $A_1C_3$ (*1 unité = 10 kg* MV)

| Syn 1 | Syn 2 | Syn 3 | Syn 2/Syn 1 | Syn 3/Syn 1 |
|---|---|---|---|---|
| 0,1550 | 0,1558 | 0,1516 | 1,0053 | 0,9784 |
| 0,1416 | 0,1316 | 0,1466 | 0,9294 | 1,0352 |
| 0,1300 | 0,1225 | 0,1241 | 0,9423 | 0,9551 |
| 0,1391 | 0,1400 | 0,1366 | 1,0059 | 0,9819 |
| 0,1533 | 0,1558 | 0,1583 | 1,0163 | 1,0326 |
| 0,1556 | 0,1416 | 0,1466 | 0,9042 | 0,9361 |
| 0,1408 | 0,1458 | 0,1441 | 1,0355 | 1,0236 |
| 0,1425 | 0,1441 | 0,1558 | 1,0116 | 1,0935 |
| 0,1566 | 0,1433 | 0,1450 | 0,9148 | 0,9255 |
| 0,1425 | 0,1491 | 0,1441 | 1,0467 | 1,0116 |
| 0,1458 | 0,1375 | 0,1433 | 0,9428 | 0,9828 |
| 0,1216 | 0,1141 | 0,1216 | 0,9383 | 0,9999 |
| 0,1550 | 0,1408 | 0,1508 | 0,9085 | 0,9730 |
| 0,1341 | 0,1333 | 0,1375 | 0,9937 | 1,0248 |
| 0,1216 | 0,1216 | 0,1316 | 1,0000 | 1,0821 |
| 0,1491 | 0,1341 | 0,1383 | 0,8994 | 0,9273 |
| 0,1600 | 0,1591 | 0,1516 | 0,9947 | 0,9479 |
| 0,1391 | 0,1383 | 0,1308 | 0,9940 | 0,9400 |
| 0,1416 | 0,1358 | 0,1316 | 0,9588 | 0,9294 |
| 0,1258 | 0,1283 | 0,1341 | 1,0198 | 1,0662 |
| 0,1416 | 0,1333 | 0,1408 | 0,9411 | 0,9940 |

*Coupe* $A_2C_1$ (*en kg* MV)

| Syn 1 | Syn 2 | Syn 3 | Syn 2/Syn 1 | Syn 3/Syn 1 |
|---|---|---|---|---|
| 6,04 | 6,77 | 6,73 | 1,1208 | 1,1142 |
| 5,83 | 5,90 | 5,98 | 1,0120 | 1,0257 |
| 7,43 | 7,83 | 7,58 | 1,0538 | 1,0201 |
| 6,06 | 5,99 | 6,05 | 0,9884 | 0,9983 |
| 6,29 | 6,41 | 6,52 | 1,0190 | 1,0365 |
| 5,60 | 5,77 | 6,34 | 1,0303 | 1,1321 |
| 5,89 | 6,11 | 6,28 | 1,0373 | 1,0662 |
| 5,80 | 5,56 | 6,62 | 0,9586 | 1,1414 |
| 5,84 | 6,22 | 6,79 | 1,0650 | 1,1626 |
| 4,89 | 5,92 | 6,79 | 1,2106 | 1,3885 |
| 5,87 | 5,94 | 5,92 | 1,0119 | 1,0085 |
| 5,73 | 5,17 | 5,85 | 0,9022 | 1,0209 |
| 6,41 | 5,68 | 5,95 | 0,8861 | 0,9282 |
| 5,52 | 5,82 | 6,11 | 1,0543 | 1,1068 |
| 7,04 | 6,80 | 6,72 | 0,9659 | 0,9545 |
| 7,31 | 6,93 | 7,20 | 0,9480 | 0,9849 |
| 6,23 | 5,82 | 6,63 | 0,9341 | 1,0642 |
| 6,33 | 6,57 | 7,47 | 1,0379 | 1,1800 |
| 7,72 | 7,37 | 7,66 | 0,9546 | 0,9922 |
| 6,52 | 6,99 | 7,76 | 1,0720 | 1,1901 |
| 6,39 | 6,12 | 7,00 | 0,9577 | 1,0954 |

*b*) Moyennes en plantes isolées.

*Pépinière* $A_0$ (*coupe 2*). *Rendement moyen par plante — Moyenne sur 6 blocs 20 pl/parcelle, en dag/plante.*

| | Origine | Syn 1 | Syn 2 | Syn 3 |
|---|---|---|---|---|
| 8-Syn | A B | 152,19 | 144,76 | 139,08 |
| | A | 132,04 | 112,41 | 113,12 |
| | B | 149,81 | 153,67 | 133,54 |
| 4-Syn | $a_1a_2b_1b_2$ | 135,87 | 134,75 | 135,21 |
| | $a_2a_3b_2b_3$ | 134,99 | 141,09 | 134,08 |
| | $a_3a_4b_3b_4$ | 170,89 | 143,89 | 148,58 |
| | $a_1a_4b_1b_4$ | 129,50 | 128,25 | 146,93 |
| | $a_1a_2a_3a_4$ | 119,88 | 110,46 | 111,95 |
| | $b_1b_2b_3b_4$ | 154,76 | 156,82 | 149,75 |
| 2-Syn | $a_1a_2$ | 100,85 | 88,70 | 118,03 |
| | $a_1b_2$ | 145,25 | 104,3 | 124,16 |
| | $a_1b_1$ | 143,85 | 107,28 | 104,8 |
| | $a_2b_2$ | 152,72 | 126,27 | 120,1 |
| | $a_2b_1$ | 142,82 | 100,98 | 109,35 |
| | $b_1b_2$ | 182,98 | 146,00 | 121,47 |
| | $a_7a_8$ | 123,68 | 97,78 | 101,13 |
| | $a_9a_{10}$ | 117,15 | 95,35 | 105,98 |
| | $a_{11}a_{12}$ | 126,47 | 104,28 | 119,73 |
| | $b_7b_8$ | 128,70 | 121,35 | 116,76 |
| | $b_9b_{10}$ | 115,80 | 116,43 | 119,98 |
| | $b_{11}b_{12}$ | 140,60 | 105,31 | 124,90 |

*Pépinière $A_1$. Rendement moyen par plante — Moyenne sur 6 blocs.*

| | Origine | Syn 1 | Syn 2 | Syn 3 |
|---|---|---|---|---|
| 8-Syn | AB | 85,36 | 80,23 | 81,74 |
| | A | 78,08 | 71,85 | 73,60 |
| | B | 83,20 | 83,14 | 78,56 |
| 4-Syn | AB | 80,51 | 76,81 | 76,99 |
| | AB | 81,65 | 83,74 | 79,19 |
| | AB | 92,25 | 83,25 | 83,27 |
| | AB | 80,73 | 71,92 | 83,62 |
| | A | 75,51 | 68,51 | 73,56 |
| | B | 86,34 | 88,26 | 80,59 |
| 2-Syn | $a_1a_2$ | 61,81 | 60,80 | 81,80 |
| | $a_1b_2$ | 83,89 | 62,37 | 74,15 |
| | $a_1b_1$ | 79,49 | 61,89 | 65,75 |
| | $a_2b_2$ | 92,50 | 73,91 | 71,79 |
| | $a_2b_1$ | 86,80 | 65,79 | 67,26 |
| | $b_1b_2$ | 92,71 | 79,64 | 73,03 |
| | $a_7a_8$ | 88,64 | 72,08 | 70,76 |
| | $a_9a_{10}$ | 74,85 | 60,28 | 75,39 |
| | $a_{11}a_{12}$ | 74,15 | 60,17 | 70,10 |
| | $b_7b_8$ | 82,17 | 73,53 | 77,39 |
| | $b_9b_{10}$ | 81,43 | 78,02 | 84,12 |
| | $b_{11}b_{12}$ | 78,34 | 69,40 | 72,03 |

*Pépinière $A_2$ — Hauteur à l'épiaison (en cm, moyenne sur 4 blocs)*

| | Origine | Syn 1 | Syn 2 | Syn 1 |
|---|---|---|---|---|
| 8-Syn | AB | 102,9 | 109,95 | 109,97 |
| | A | 104,6 | 103,75 | 107,92 |
| | B | 113,35 | 114,2 | 114,95 |
| 4-Syn | AB | 98,95 | 100,8 | 105,0 |
| | AB | 104,32 | 104,25 | 102,75 |
| | AB | 111,47 | 112,40 | 105,85 |
| | AB | 97,92 | 104,12 | 103,62 |
| | A | 97,32 | 96,07 | 101,82 |
| | B | 105,4 | 109,87 | 104,07 |
| 2-Syn | $a_1a_2$ | 84,12 | 89,12 | 103,62 |
| | $a_1b_2$ | 92,57 | 86,12 | 88,62 |
| | $a_1b_1$ | 93,7 | 85,47 | 93,55 |
| | $a_2b_2$ | 99,45 | 93,22 | 91,02 |
| | $a_2b_1$ | 98,42 | 96,10 | 103,97 |
| | $b_1b_2$ | 93,55 | 98,70 | 101,45 |
| | $a_7a_8$ | 113,72 | 108,75 | 106,32 |
| | $a_9a_{10}$ | 107,92 | 101,75 | 110,95 |
| | $a_{11}a_{12}$ | 94,6 | 91,45 | 90,87 |
| | $b_7b_8$ | 109, | 96,8 | 102,32 |
| | $b_9b_{10}$ | 102,3 | 105,6 | 110,75 |
| | $b_{11}b_{12}$ | 97,57 | 101,0 | 92,72 |

*Pépinière* $A_2$ — *Circonférence des touffes. Moyenne sur 6 blocs*

| | Origine | Syn 1 | Syn 2 | Syn 3 |
|---|---|---|---|---|
| 8-Syn | AB | 88,4 | 89,03 | 86,03 |
| | A | 92,3 | 94,47 | 90,83 |
| | B | 76,93 | 77,23 | 80,87 |
| 4-Syn | AB | 80,57 | 83,87 | 82,85 |
| | AB | 85,68 | 88,27 | 83,37 |
| | AB | 86,13 | 86,93 | 88,3 |
| | AB | — | — | — |
| | A | 90,03 | 84,46 | 90,36 |
| | B | 81,0 | 79,13 | 80,93 |
| 2-Syn | $a_1a_2$ | 83,96 | 81,20 | 81,70 |
| | $a_1b_2$ | — | — | — |
| | $a_1b_1$ | 85,58 | 84,77 | 82,9 |
| | $a_2b_2$ | 85,32 | 78,53 | 82,35 |
| | $a_2b_1$ | 85,00 | 80,9 | 81,36 |
| | $b_1b_2$ | 86,67 | 79,90 | 85,33 |
| | $a_7a_8$ | 93,00 | 84,73 | 88,33 |
| | $b_7b_8$ | 79,00 | 78,60 | 82,57 |
| | $b_9b_{10}$ | 77,27 | 76,03 | 80,8 |
| | $b_{11}b_{12}$ | 85,36 | 80,91 | 88,28 |

*Pépinière* $A_2$ — *Longueur des feuilles (en cm, moyenne sur 5 blocs)*

| | Origine | Syn 1 | Syn 2 | Syn 3 |
|---|---|---|---|---|
| 8-Syn | AB | 38,96 | 43,08 | 40,88 |
| | A | 37,64 | 36,28 | 37,68 |
| | B | 45,68 | 46,60 | 48,80 |
| 4-Syn | AB | 40,96 | 40,20 | 41,00 |
| | AB | 42,68 | 40,48 | 40,08 |
| | AB | 37,8 | 38,2 | 39,48 |
| | AB | 37,76 | 38,32 | 39,72 |
| | A | 33,72 | 34,56 | 35,12 |
| | B | 41,52 | 43,04 | 40,12 |
| 2-Syn | $a_1a_2$ | 32,12 | 33,92 | 39,64 |
| | $a_1b_2$ | 37,16 | 36,56 | 35,44 |
| | $a_1b_1$ | 38,60 | 36,48 | 37,00 |
| | $a_2b_2$ | 40,36 | 37,88 | 38,44 |
| | $a_2b_1$ | 40,00 | 39,32 | 39,12 |
| | $b_1b_2$ | 45,60 | 43,20 | 41,08 |
| | $a_7a_8$ | 39,00 | 39,00 | 38,60 |
| | $a_9a_{10}$ | 36,36 | 37,84 | 39,96 |
| | $a_{11}a_{12}$ | 36,04 | 33,60 | 35,24 |
| | $b_7b_8$ | 44,92 | 42,12 | 41,80 |
| | $b_9b_{10}$ | 45,60 | 44,89 | 43,76 |
| | $b_{11}b_{12}$ | 45,16 | 45,28 | 41,64 |

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (6), 705-715.

# Analyse d'un mutant à tige cassante radio-induit chez le *Riz, Oryza sativa*, L.

Jacqueline DOAT et R. MARIE*

Avec la collaboration technique de M. GRILLARD et J.-L. SÉGUY

*Division Cellulose et Chimie, Centre technique forestier tropical*,
*94130 Nogent-sur-Marne*

* *Station d'Amélioration des Plantes*
*Centre de Recherches agronomiques de Montpellier, I.N.R.A.*,
*34060 Montpellier Cedex*

## Résumé

Dans la descendance autogame de semences de Riz de la variété « Balilla 28 », ayant subi un traitement mutagène par le rayonnement gamma du Cobalt 60, a été isolé un mutant inattendu à tige cassante. Cette propriété, reconnue comme héréditaire, puis fixée, a été soumise à l'analyse chimique. La comparaison entre témoin et mutant révèle des différences importantes dans les taux de cellulose et d'extraits à la soude à 1 p. cent : la paille cassante contient moins de cellulose et présente une certaine dégradation des composés glucidiques. La fragilité des tissus de la plante va de pair avec une dépolymération partielle de la cellulose, qui serait accompagnée d'une transformation de cellulose alpha en cellulose bêta ou gamma.

Ce type de mutation, d'apparence génétique simple, pourrait servir d'exemple à la création de nouvelles variétés de plantes à fibres à caractéristiques chimiques modifiées.

## Introduction

Il arrive qu'une recherche orientée vers un objectif précis procure, chemin faisant, des résultats inattendus sans rapport avec cet objectif. Un tel événement n'est pas rare lorsqu'il s'agit de mutagenèse appliquée à l'obtention de génotypes nouveaux intéressant l'agriculture. Le sélectionneur est, en effet, maître d'un certain nombre de facteurs (variétés de départ, choix de l'organe à traiter, modalités du traitement, conditions de culture, techniques de détection...), mais les résultats dépendent d'effets imputables à des mécanismes de réparation des lésions encore mal élucidés et dont la maîtrise échappe en grande partie, d'où la qualification d'aléatoire généralement attribuée à la mutation.

C'est l'obtention fortuite d'un mutant à tige particulièrement fragile, à partir d'un riz très tardif dont on espérait une amélioration dans le sens de la précocité

et de la vitrosité, que nous présentons à titre d'exemple. La première partie de ce travail retracera l'historique de cette mutation; dans la deuxième partie figurent les études analytiques.

## I. — Genèse d'une mutation concernant les propriétés des fibres

L'absence de géniteurs à la fois précoces, productifs et résistants à la verse, nécessaires pour obtenir des variétés nouvelles de Riz bien adaptées aux conditions de milieu de la Camargue, a conduit la Station d'Amélioration des Plantes de Montpellier à recourir à la méthode d'induction de mutations.

A la suite de premiers essais fructueux (MARIE, 1962-1963) a été entrepris le perfectionnement de la technique d'exposition des semences de Riz au rayonnement gamma avec l'aide du Service de Radio-agronomie du Centre d'Études nucléaires de Cadarache.

Le matériel végétal adopté pour cette étude était à l'époque (1963) la variété la plus cultivée en France, « Balilla 28 », lignée pure tirée par l'I.N.R.A. d'une souche italienne (« Balilla »). Il s'agit d'un riz productif qui présente le défaut, pour la France, d'avoir un cycle végétatif un peu trop long; la maturité tardive s'avère difficile certaines années à déficience thermique et la qualité du produit récolté laisse à désirer. Le sous-produit de l'étude de la réponse à divers traitements radioactifs était, avec un cycle végétatif plus court, l'absence de perle (zone farineuse) du caryopse, le caractère translucide total du grain blanchi étant préféré dans le commerce.

La semence nous a paru comme la partie de la plante entière la plus aisée à mettre en œuvre pour induire des mutations en fonction de l'équipement particulier mis précédemment à notre disposition par le Centre régional de Lutte contre le Cancer situé à Montpellier (Dr P. LAMARQUE et J. GARY-BOBO). C'est donc sur 1 000 grains de « Balilla 28 », récoltés dans d'excellentes conditions, soigneusement triés à la main et conservés à 14 p. cent d'eau, qu'a porté l'étude de la réaction des semences à plusieurs modalités d'exposition aux photons gamma. L'irradiateur utilisé est un appareil expérimental spécialement conçu pour ce faire; réalisé par les soins du Commissariat à l'Énergie atomique (Département de Biologie du Centre d'Études nucléaires de Saclay) il comporte une source faible de Cobalt 60 de 92,5 GBq de puissance maximale (équivalant à 2 500 millicuries).

Le traitement qui a induit la mutation « tige cassante » faisait partie d'une série expérimentale comparant des régimes de flux gamma discontinus et continus, à dose totale constante. Parmi les régimes continus, ce traitement comportait 5 doses décroissantes successives distribuées entre le 9 janvier et le 21 avril 1963, soit en $C.kg^{-1}$ : 1 479 (20 j.), 1 362 (20 j.), 1 311 (21 j.), 1 134 (20 j.) et 1 076 (21 j.). Au total : 6 362 $C.kg^{-1}$ en 102 jours, équivalant à 24 658 Roentgens.

Le semis eut lieu le 11 mai. A la levée, les plantules ont fait preuve d'une vigueur plus grande que chez le traitement symétrique à doses croissantes et que chez le témoin irradié à doses égales pendant les cinq périodes consécutives. Le tableau 1 résume les observations relevées sur la première génération ($M_1$).

En 1964, dans la génération $M_2$, on a détecté 243 hors-types (plantes différant du témoin par un détail phénotypique visible). L'un d'eux présentait des glumelles jaunâtres en végétation; le témoin a des glumelles vert franc.

La descendance de ce hors-type (une lignée $M_3$ portant le n° 137) s'est présentée

TABLEAU I

*Observations sur la première génération*

| | Témoin non irradié | Lot irradié |
|---|---|---|
| Pourcentage de levée. . . . . . . . . . . . . . . . . . . . | 94,4 | 70,4 |
| Hauteur moyenne des plantules au repiquage le 1er juin (cm) | 16 | 9 |
| Nombre de plantes repiquées . . . . . . . . . . . . . . | 100 | 100 |
| Nombre de plantes récoltées le 7 novembre. . . . . . . . | 100 | 63 |
| Pourcentage de survie au repiquage . . . . . . . . . . . . | 100 | 63 |
| Nombre moyen de panicules par plante . . . . . . . . . . | 3,8 | 2,8 |
| Nombre moyen de fleurs par panicule . . . . . . . . . . | 110 | 87 |
| Nombre moyen de fleurs par plante . . . . . . . . . . | 419 | 243 |
| Coulure (pourcentage de fleurs stériles) . . . . . . . . | 10 | 70 |
| Nombre de grains récoltés sur 63 plantes . . . . . . . . | 23 782 | 4 360 |

comme uniforme pour le caractère flavescent des inflorescences : c'est généralement l'indice d'une mutation monofactorielle récessive, — car par ailleurs non repérée en $M_1$ — mais dans ce cas précis nous n'avons pas analysé le mode de transmission héréditaire (la suite montrera que cette question mérite d'être abordée). La date d'épiaison (17 août) est comparable à celle du témoin « Balilla 28 » (16 août). La lignée n'a été reconnue « cassante » qu'au moment de la récolte, le 3 novembre; cette fragilité ne confère toutefois à la plante aucune sensibilité à la verse; l'angle de « flambage » sous l'action du mistral n'est en effet jamais atteint. La très bonne résistance à la verse a été vérifiée pendant plus de 10 ans.

En 1966, le mutant figure en $M_4$ dans la collection botanique de la Rizière expérimentale de l'I.N.R.A., dans la série des mutants de « Balilla 28 », sous le nom de « Balilla flavescent à tige cassante ». Le cycle végétatif coïncide à nouveau avec celui du témoin, à un jour près : début d'épiaison le 13 août, contre le 12 pour le témoin. Les tiges et les gaines se révèlent franchement cassantes dès le 23 août. Il en est de même pour les rachis, par simple mouvement de pliage, alors que le témoin n'est rompu que par traction forte et soutenue. La flavescence n'apparaît bien qu'après le 23 août, progressivement, à mesure que les ovaires se développent. La hauteur moyenne finale de la plante est 70 cm (témoin : 60 cm). Deux plantes apparemment plus précoces au moment de la maturité ont été récoltées à part, en vue d'une épreuve par la descendance.

En 1967 est cultivée la $M_5$. Les deux lignées correspondant aux plantes plus hâtivement mûries en 1966 ne diffèrent en rien du reste de la famille. Il s'agissait par conséquent d'un effet de fluctuation.

L'épiaison s'est produite le 15 août, en même temps que celle du témoin, mais la fin de la floraison est notée deux jours plus tard (1er septembre contre 30 août), ce qui fait soupçonner un léger allongement du cycle végétatif du mutant. Comme hauteur moyenne des plantes à la maturité, on a mesuré 70 cm (témoin : 80). Après la récolte, le 11 octobre, à l'occasion de laquelle ont été observées mêmes tenues à la verse et à l'égrenage, un essai de rendement à l'usinage au moyen d'une microrizerie expérimentale (type OLMIA) a donné les résultats suivants, en pourcentage du poids de paddy ventilé : grains blanchis entiers : 61,5, grains

brisés : 1,5, grains verts et crayeux : 5,9 (chez le témoin, on a trouvé respectivement : 69,3 — 0,9 et 2,1).

En 1968, génération $M_6$ : épiaison le 17 août soit 3 jours après le témoin; virage le 30 septembre soit 7 jours après; hauteurs finales comparables : 65 cm. Trois plantes autofécondées à la main le 20 août ont été récoltées le 28 octobre. On relève que la productivité apparente du mutant est légèrement moindre que celle de la variété-mère.

En 1969, génération $M_7$ : épiaison le 18 août (« Ballilla 28 » le 16); hauteur 70 cm (contre 75). Pendant toute la végétation, on ne remarque aucune différence d'aspect entre plantes issues d'autofécondation obligée et descendance de fécondation autogame normale. La variété mutante se comporte en totalité comme une lignée fixée. Nouvelle autofécondation sous sachets de trois plantes dans une des progénitures déjà traitées de cette façon en 1968. Récolte le 28 octobre. A l'épreuve d'usinage en laboratoire : blanchi entier : 64,5 p. cent, brisure : 0,6, grains verts et crayeux : 4,7 (témoin : 70,1 — 0,6 et 1,4). Le ralentissement des processus de maturation est ainsi confirmé chez « Balilla flavescent à tige cassante ».

En 1970, génération $M_8$ : épiaison le 8 août (témoin le 4). Hauteur en fin de cycle : 75 cm (témoin 70).

En 1971, génération $M_9$ : épiaison le 5 août (témoin le 1er août). Hauteur finale : 80 cm (témoin 85). Comme lors de la campagne précédente, on note une excellente homogénéité dans toute la parcelle. En récolte normale, comme à surmaturité, la qualité du grain s'avère inférieure à celle du témoin, ce qui consolide l'hypothèse d'un trouble physiologique responsable d'une moins bonne aptitude à mûrir (voir tabl. 2).

TABLEAU 2

*Rendements à l'usinage* (p. cent du poids de paddy ventilé)
*évalués sur la génération $M_9$ en 1971*

| Date de récolte | Témoin « Balilla 28 » | | Mutant « Balilla flavescent à tige cassante » | |
|---|---|---|---|---|
| | 28 septembre | 4 octobre | 28 septembre | 4 octobre |
| Grains blanchis entiers . | 65,5 | 65,2 | 61,5 | 67,5 |
| Grains brisés . . . . . . | 1,2 | 2,7 | 1,2 | 6,5 |
| Grains verts et crayeux. . | 0,2 | 0,2 | 3,5 | 3,5 |

Le retard à l'épiaison, fluctuant d'une année à l'autre, se confirme par ailleurs lorsqu'on prend la moyenne sur 8 campagnes : 2,5 jours. De même le témoin mesure en moyenne 4 cm de plus, et sa productivité en conditions expérimentales s'estime à 110 p. cent de celle du mutant à tige cassante. On n'a constaté, depuis la reprise en lignées dès 1965, aucune réversion, qu'il s'agisse de la flavescence des glumelles ou de la fragilité des tissus de soutien.

La récolte de la paille des deux variétés, en vue d'analyses chimiques comparées, a débuté en 1974, c'est-à-dire en $M_{12}$, génération où l'on admet généralement

que le taux d'homozygotie pour l'ensemble des facteurs génétiques est très voisin de 100 p. cent chez les plantes autogames strictes comme le Riz.

Avant de faire état, dans le chapitre qui suit, des différences détectées au niveau des glucides des pailles, nous citerons les résultats d'analyse des fractions protéiques d'Osborne obtenus par le Laboratoire de Technologie des Blés durs et du Riz de l'I.N.R.A. (Montpellier) sur les grains de riz blanchi; il s'agit d'un extrait de l'étude d'une série de mutants de « Balilla 28 » issus de la même expérience radiobiologique. On remarquera (tabl. 3) une modification dans la teneur en *glutélines* G1 et G2, la teneur globale étant pratiquement inchangée.

TABLEAU 3

*Composition du riz blanchi*

| | Témoin « Balilla 28 » | Mutant « Balilla flavescent à tige cassante » |
|---|---|---|
| Protéine p. cent de la matière sèche (N × 5,95) | 10,1 | 10,9 |
| Albumine p. cent de protéine | 5,2 | 5,1 |
| Globuline p. cent de protéine | 10,2 | 10,3 |
| Prolamine p. cent de protéine | 4,3 | 4,2 |
| Gluteline G1 p. cent de protéine | 57,0 | 51,0 |
| Gluteline G2 p. cent de protéine | 21,3 | 26,4 |

La différence des teneurs de la matière sèche en *protéine totale* apparaît suffisante pour être retenue comme significative dans les conditions de l'expérience mais il convient de l'interpréter, comme dans le cas de certains maïs plus riches en protéine, par une diminution de la teneur en amidon. La quantité de protéine par grain (pris individuellement et non plus dans la masse) est en effet la même chez le témoin et le mutant. Cela nous conduit à examiner la situation relative au niveau des glucides.

## II. — Caractéristiques physico-chimiques de la paille du mutant et du témoin

L'échantillonnage portait sur le produit homogénéisé du broyage de 200 tiges, prélevées, à la maturité, sur chacune des deux variétés, cultivées côte à côte dans les mêmes conditions.

Les analyses ont été effectuées par la Division « Cellulose et Chimie » du Centre technique forestier tropical (Nogent-sur-Marne). Elles constituent deux séries d'essais :

— des essais chimiques,
— des essais papetiers.

## 1. — *Essais chimiques*

1.1. — *Première analyse:* elle est résumée dans le tableau 4.

On remarque chez le mutant une teneur moindre en cellulose vraie et davantage d'extrait net à la soude : les composés glucidiques des tiges semblent donc nettement dégradés par l'effet de la mutation. Il s'agissait d'échantillons prélevés de la même manière dans les mêmes conditions homogènes de milieu cultural.

TABLEAU 4

*Analyse des pailles* (en p. cent de produit sec)

| | Témoin « Balilla 28 » | Mutant « Balilla flavescent à tige cassante » |
|---|---|---|
| Extrait à l'alcool-benzène | 9,4 | 8 |
| Extrait à l'eau | 11,65 | 12,95 |
| Extrait à la soude (net) | 27,1 | 37,2 |
| Pentosanes | 25,3 | 27,6 |
| Lignine (nette) | 7,4 | 10 |
| Cellulose | 33,75 | 27,3 |
| Cendres totales (425 °C) | 14,3 | 15,3 |
| $SiO_2$ | 10,3 | 9,7 |
| $Fe_2O_3$ | 0,06 | 0,05 |
| $Fe_2O_3 + Al_2O_3$ | 0,21 | 0,13 |
| CaO | 0,57 | 0,51 |

1.2. — *Deuxième analyse.*

Afin de préciser au niveau moléculaire la nature du caractère muté, on s'est appliqué à séparer et à chiffrer les proportions d'alpha, de bêta et de gamma cellulose. Cette séparation est extrêmement délicate et jusqu'à présent, des résultats définitifs n'ont pas pu être obtenus.

Le mode opératoire retenu était le suivant :

— isolation de « l'holocellulose » par traitement à chaud avec un excès de chlorite — pesée du résidu,

— isolation de l'alpha cellulose de cette holocellulose par traitement à la soude,

— dans le filtrat, précipitation à l'acide acétique et isolation de la bêta cellulose,

— la gamma cellulose serait obtenue par différence.

Les quantités d'alpha cellulose trouvées sur les deux échantillons étaient :

• pour la *paille témoin:* 60,0 p. cent par rapport à l'holocellulose soit 33,1 p. 100 par rapport à la paille initiale,

• pour la *paille du mutant* : 45,3 p. cent par rapport à l'holocellulose soit 27,3 p. cent par rapport à la paille initiale.

On remarque que ces chiffres sont équivalents à ceux trouvés pour la cellulose (méthode nitroalcoolique). Ils montrent que la paille du témoin contient davantage de cellulose de « bonne qualité ».

La séparation des celluloses bêta et gamma selon la méthode préconisée par l'AFNOR a conduit à des précipités colloïdaux pratiquement impossibles à filtrer ou à centrifuger de manière quantitative. La répartition en bêta et gamma n'a donc pas pu être chiffrée.

2. — *Essais papetiers.*

Bien que l'emploi de ces pailles dans l'industrie papetière ne soit pas prévu actuellement en France (il pourrait cependant l'être dans certains pays tropicaux), quelques tests papetiers ont été effectués pour mieux situer les différences entre les deux échantillons. Ils comprennent la cuisson des pailles, l'analyse et le blanchiment des pâtes résultantes.

2.1. — *Cuissons*

Deux cuissons alcalines ont été réalisées en parallèle sur « Balilla 28 » témoin et sur « Balilla flavescent » dans des conditions identiques :

Quantité de paille sèche traitée : 103 g.
NaOH introduite (p. cent de paille sèche) : 12.
$SNa_2$ introduit (p. cent de paille sèche) : 4.
Dilution (liquide/paille) : 6/1.
Température : 170 °C.
Durée totale : 3 h 30.

En fin de cuisson, les pâtes écrues obtenues ont été lavées et essorées; on a déterminé les rendements en pâte par rapport aux pailles initiales, la dureté de la pâte (ou Indice de $MnO_4K$) qui est fonction de la teneur en lignine restant dans la pâte, et la teinte des pâtes écrues.

Les résultats enregistrés sont donnés au tableau 5.

TABLEAU 5

*Essai de cuisson des pailles*

| | Témoin « Balilla 28 » | Mutant « Balilla flavescent à tige cassante » |
|---|---|---|
| Rendement en pâte : | | |
| net (sans fines) p. cent | 43,5 | 41,5 |
| total (avec fines) p. cent | 47,4 | 42,9 |
| Indice $MnO_4K$ | 12,3 | 16,4 |
| Teinte (mesurée au photovolt) | 35,5 | 29,5 |

On remarque que la paille témoin donne, avec un meilleur rendement (4,5 points de plus) une pâte plus cuite (Indice de $MnO_4K$ : plus bas de 4 points) et plus claire (teinte mesurée au photovolt : supérieure de 6 points). L'échantillon témoin est nettement plus favorable que l'échantillon du mutant.

2.2. — *Blanchiment*

Les deux pâtes ont été blanchies avec un excès de chlorite de sodium (50 p. cent par rapport à la pâte) en milieu faiblement acide (pH de l'ordre de 5) tamponné à l'acide acétique à 80° pendant 1/2 h.

On a mesuré la blancheur des pâtes, la stabilité de la blancheur (3 j à 105 °C). D'autre part le degré de polymérisation (ou longueur moyenne des chaînes cellulosiques) a été déterminé par la mesure de la viscosité d'une solution de pâte dans la cupriéthylènediamine.

Les valeurs trouvées sont transcrites au tableau 6.

TABLEAU 6

*Essai de blanchiment des pâtes*

| | Témoin « Balilla 28 » | Mutant « Balilla flavescent à tige cassante » |
|---|---|---|
| Teinte de la pâte blanchie (photovolt) . . . . . | 68,5 | 61,5 |
| Stabilité de la blancheur (photovolt vieilli/photovolt initial) en p. cent . . . . . . . . . . . . . . . | 71,3 | 63,7 |
| D.P. moyen (degré de polymérisation) . . . . . . | 955 | 800 |

La pâte témoin blanchit mieux que la pâte de paille à tige cassante; sa blancheur est plus stable car elle jaunit moins à la chaleur. D'autre part la cellulose de « Balilla 28 » a des chaînes moléculaires plus longues de 15 à 20 p. cent en moyenne que celles du mutant (155 points de différence entre les évaluations des degrés de polymérisation).

2.3. — *Caractéristiques micrographiques*

On a examiné au microscope les deux pâtes traitées au chlorite. On n'a pas remarqué de différences sensibles dans les dimensions de fibres qui se situaient autour de 750 micromètres pour la longueur, 5 à 6 micromètres pour la largeur, les lumens étant assez étroits (de l'ordre de 1 à 2 micromètres) quel que soit l'échantillon. Toutefois on a rencontré, dans la paille du mutant, quelques fibres présentant des sinuosités à leur surface, des inflexions et même parfois une cassure à angle droit, ce qui pourrait peut-être indiquer que les parois sont légèrement affaiblies.

2.4. — *Caractéristiques mécaniques*

Les deux pâtes ont été mises en feuilles de papier de 60 g/m², après un léger raffinage, et leurs caractéristiques mécaniques déterminées.

TABLEAU 7

*Caractéristiques mécaniques des pâtes de paille selon le temps de raffinage*

| | Témoin « Balilla 28 » | | Mutant « Balilla flavescent à tige cassante » | |
|---|---|---|---|---|
| Durée de raffinage(s) | 0 | 60 | 0 | 30 |
| °SR | 25 | 45 | 35 | 50 |
| Indice éclatement | 23 | 43 | 22 | 29 |
| Longueur de rupture | 4 180 | 6 210 | 4 180 | 5 135 |
| Allongement p. cent | 3,8 | 5,8 | 3,8 | 4,7 |
| Indice déchirement | 50 | 53 | 35 | 31 |
| Nombre de doubles plis | 7 | 26 | 4 | 5 |
| Main | 1,75 | 1,50 | 1,55 | 1,50 |

Les chiffres enregistrés sont donnés au tableau 7.

On note que la pâte de paille du riz mutant déjà plus grasse au départ se raffine plus rapidement que la pâte témoin.

La résistance à la rupture et à l'éclatement des deux pâtes brutes est équivalente mais l'indice de déchirement nettement supérieur pour la pâte de « Balilla 28 » (50 contre 35). Après raffinage, la solidité de la pâte témoin est dans tous les cas supérieure à celle de la pâte de matière première irradiée.

Ces résultats traduisent une fois encore une fragilité de la cellulose due à la mutation.

## III. — Conclusion des analyses

Les tests entrepris indiquent que les grains de riz irradiés au Cobalt 60 donnent naissance à une paille affaiblie, de caractéristiques différentes de celles de la paille témoin. Cet affaiblissement se situe surtout au niveau des polymères glucidiques :

— chaînes cellulosiques plus courtes qui sont plus facilement dégradées à la soude,

— teneur en alpha cellulose plus faible,

— rendements papetiers inférieurs,

— fragilité plus grande des fibres.

## Discussion et conclusion

Une analyse génétique de la nouvelle variété obtenue par mutation à partir du croisement du parent « Balilla 28 » avec le génotype actuel peut seule révéler si toutes les transformations physico-chimiques observées sont dues à un seul gène

ou à plusieurs. Dans le premier cas, il s'agirait de pléiotropie, dans le deuxième, d'un effet polyfactoriel du traitement mutagène. Il n'est pas non plus possible, sans retrocroisement, d'affirmer si la flavescence est ou non liée à la fragilité. On a signalé l'existence d'un gène récessif responsable de la tige cassante (*brittle culm*), qui pourrait servir de marqueur pour tenter d'identifier la mutation (JONES, 1933; JODON, 1957; NAGAO et TAKAHASHI, 1960; USDA, 1963).

Quelle que soit la réponse aux diverses questions qui se posent, il n'est plus à démontrer que la mutagenèse expérimentale est en mesure d'opérer des transformations héréditaires remarquables au niveau des fibres de soutien. Dans le cas présent, le caractère brisant des tiges est à considérer, du point de vue du sélectionneur, comme favorable car utilisable dans certains pays rizicoles où se pratique la récolte manuelle (par exemple Indonésie, nord de Madagascar, Haïti...). La cueillette des inflorescences (panicules) y est malaisée sans outil (ani ani, coquille de mollusque) en raison de la teneur élevée en silice de la partie aérienne.

Par contre, du point de vue de l'industrie papetière, il s'agit bien d'un exemple de dégradation des fibres, caractère défavorable. Cependant, comme l'expérience l'a montré abondamment, les mutations induites offrent l'intérêt de déformer les caractères dans deux sens opposés, par exemple : tige plus courte ou plus haute, cycle végétatif plus long ou plus bref, grain grossi ou amenuisé, allongé ou raccourci, teneur en amylose accrue diminuée, résistance à une maladie atténuée ou plus accusée... etc... Il est donc permis — « pour raison de symétrie » pourrait-on dire — de concevoir le recours à la mutagenèse pour résoudre un problème d'amélioration papetière des fibres chez des espèces végétales dont la qualité laisse à désirer à cet égard, mais par ailleurs surdouées en ce qui concerne la vitesse de croissance, la vigueur et la capacité d'adaptation ou de rendement.

La méthode s'applique aussi bien à des plantes à multiplication sexuée qu'aux plantes à propagation végétative obligatoire (on traite dans ce cas les bourgeons au lieu des embryons); cette méthode se recommande chaque fois que le sélectionneur manque de géniteurs adéquats pour satisfaire aux exigences d'un programme d'amélioration variétale.

*Reçu pour publication en juin 1977.*

## Summary

*Analysis of a Brittle-culm mutant of rice* (Oryza sativa), *induced by gamma rays*

At the I.N.R.A. Plant Breeding Station of Montpellier (France) an unexpected " brittle-culm " mutant has been screened in the progeny of the rice cultivar " Balilla 28 " after a seed treatment by gamma rays from a Cobalt-60 source (seeds of a pure line; moisture 14 p. cent; total exposure: 6 362 $C.kg^{-1}$, equivalent to 24 658 Roentgens, during 102 days a little before sowing time in 1963).

This property proved hereditable and true-breeding. It does not affect the high resistance to lodging of rice plants. In 1974 (12th generation), 200 culm samples of each variety, mother and mutant, cultivated in the same standard conditions, were submitted to chemical analysis, at the " Cellulose et Chimie " Division, Centre Technique forestier tropical, Nogent-sur-Marne (France).

Important difference were pointed out between control and mutant lines in cellulose content and 1 p. cent NaOH extracts: " brittle-culm " straw contains less cellulose and shows a degradation of glucid coupounds. The brittleness of plant tissues appears to be correlated with a partial depolymarization of cellulose, associated with a possible transformation from alpha- to beta- or gamma-cellulose.

On the other hand, the straws were cooked according to the kraft process in order to make paper puls. Between control and mutant samples, there appeared likewise some differences in

yield, bleaching response, brightness stability, polymerization degree of bleached pulps and mechanical characteristics of papers.

In all cases the control straw gave better results than the mutant straw. Lastly, in the mutant pulps the fibres seemed to be weakened in comparison with those of the control pulp.

This type of mutant could be useful in many tropical countries where they harvest rice panicles by hand.

It could serve as an example of the development of new cultivars of fibre plants with chemically modified characters. Increased alpha-cellulose content generally is desired; such a mutation seems to be possible according to the number of " symmetrical " mutations up to now observed.

## Références bibliographiques


BERNAUX P., MARIE R., 1977. Mutants induits chez le Riz (*Oryza sativa* L.) pour la réponse à *Sclerotium oryzae* Catt. et *Sclerotium hydrophilum* Sacc. *Comm. Colloque international sur l'utilisation des mutations induites pour l'amélioration de la résistance aux maladies des plantes de grande culture.* OAA/AIEA, Vienne (Autriche), 31 janv.-4 fév. 1977 (sous presse).

JODON N. E., 1957. Inheritance of some of the more striking characters in rice. *J. Hered.*, **48**, 181-192.

JONES J. W., 1933. Inheritance of characters in rice. *J. agric. Res.*, **47**, 771-782.

KAMENAN A., FEILLET P., 1976. Changes in rice protein composition by gamma irradiation of seeds. *Rice Report* 1976 (sous presse).

MARIE R., 1962. Mutation induite et sélection chez le Riz (*Oryza sativa* L.) en France — *Comm.* **9e** *Session du Groupe de Travail de la Production et de la Protection du Riz* — FAO, Nouvelle Delhi 11-16 déc. 1961 — *Agron. trop.*, **17**, 963-968.

MARIE R., 1963. Obtention de mutants de Riz de bonne valeur agronomique. *Utilisations de l'Énergie nucléaire* (quinzaine des sciences nucléaires — Univ. Montpellier) — Masson et Cie édit., 28-37.

MARIE R., 1963. Génétique et Riziculture. *Journées du Riz*, Arles, 1962. Edit. Direction des Services Agricoles, Marseille, 31-54.

MARIE R., 1963. Deuxième contribution à l'étude du Riz en France : obtention de variétés nouvelles par hybridation et mutagenèse induite. *Ann. Amélior. Plantes*, **13**, (3), 175-219.

MARIE R., 1965. Efficacité dans la recherche de variétés de Riz améliorées par mutation. *Comm. Réunion technique sur l'emploi des mutations induites en phytogénétique.* OAA/AIEA/EUCARPIA. Rome 25 mai-1er juin 1964. *Use of induced mutations in plant breeding*, Pergamon Press. 611-617.

MARIE R., 1968. Mutation et Riziculture. *Journées du Riz*, Arles, sept. 1968. Min. de l'Agric. Direction Départementale de l'Agric. des Bouches-du-Rhône édit., 139-152.

MARIE R., 1970. Rice breeding with induced mutations in France. *Technical Report* Series N. 102. *International Atomic Energy-Agency*, Vienna, 21-24.

MARIE R., 1972. Intérêt de la mutation induite pour lutter contre les ennemis des plantes. Comm. Congrès de coordination des recherches sur la mutation induite pour la résistance aux maladies OAA/AIEA, Nairobi déc. 1971. *Bull. Inf. Rizic. Fr.*, 139, 12-13.

MARIE R., 1974. La mutagenèse expérimentale. *Agron. trop.* **29**, (9), 892-900.

MARIE R., TINARELLI A., 1972. Rice mutants and resistance to blast disease. *Comm. Congrès de coordination de la recherche sur l'utilisations des mutations induites pour améliorer le riz.* OAA/AIEA, Los Banos, Philippines sept. 1971. *Il Riso*, **21**, (1), 21-24.

NAGAO S., TAKAHASHI M., 1960. Genetical studies on rice plant. XXIV. Preliminary report on twelve linkage groups in japanese rice. *J. Fac. Agr., Hokkaido Univ.* (Sapporo) 51, 289-298.

U.S.D.A., 1963. Rice gene symbolization and linkage groups, ARS 34-28, 56 p.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (6), 717-728.

# Résistance au gel et évolution physiologique des bourgeons floraux du Pêcher

R. MONET et Y. BASTARD

*Station de Recherches d'Arboriculture fruitière,*
*Centre de Recherches de Bordeaux, I.N.R.A.,*
*Domaine de la Grande Ferrade, Pont-de-la-Maye*
*33140 Villenave-d'Ornons*

## Résumé

L'étude simultanée de la croissance pondérale des bourgeons floraux du Pêcher, de leur teneur en sucres, de leur teneur en eau et de leur résistance au gel en conditions artificielles a été réalisée au cours de deux saisons hivernales successives.

Il apparaît que la résistance au gel évolue profondément pendant la croissance de l'ébauche florale. Cette évolution ne paraît pas être liée à la teneur en sucres solubles des tissus, elle semble dépendre davantage de leur teneur en eau.

## Introduction

Nous avons montré (MONET et BASTARD, 1971) que les chutes de bourgeons floraux, constatées sur le Pêcher certaines années en France, n'étaient pas le fait de températures trop élevées qui séviraient au cours de la deuxième partie de la dormance des bourgeons (octobre, novembre et décembre) mais correspondent à des dégâts de gel postérieurs à la levée de dormance.

La sensibilité au gel des bourgeons floraux du Pêcher mérite donc une étude particulière.

Plusieurs auteurs se sont déjà intéressés à cette question.

BLAKE (1935) classe parmi les caractères de rusticité (hardiness) d'une variété de Pêcher, l'aptitude de ses bourgeons floraux à supporter des températures hivernales variables (alternance de réchauffement et de gel).

A partir d'observations réalisées sur une collection, KNOWLTON (1936) établit la résistance au gel des bourgeons floraux de 43 variétés de Pêcher. CULLINAN

et WEINBERGER (1934), EDGERTON (1954) utilisent des procédés artificiels : cryostads, enceintes froides, pour tester les variétés.

PROEBSTING (1959) étudiant l'évolution de la sensibilité au froid des bourgeons floraux de la variété « Elberta » pendant quatre années successives fait trois hypothèses :

— la résistance au froid est déterminée par le stade de développement du bourgeon;

— à un stade de développement donné, la résistance peut être modifiée par les conditions thermiques qui précèdent (phénomène d'endurcissement ou de sensibilisation);

— à la fois le niveau de base de la résistance au gel du bourgeon et sa capacité d'endurcissement supplémentaire sont affectés par les conditions annuelles de la croissance (à un moment donné, la résistance au gel et la possibilité d'endurcissement des bourgeons floraux d'une même variété ne seront pas les mêmes d'une année à l'autre).

Les publications ultérieures de cet auteur essayent d'apporter des éléments de preuve au moins aux deux premières hypothèses. Il étudie d'abord (PROEBSTING *et al.*, 1961) la perte de résistance au froid des bourgeons en fonction de leur état morphologique pendant la période préflorale et florale. Il s'intéresse ensuite aux phénomènes d'endurcissement et de sensibilisation de la jeune fleur (PROEBSTING, 1963).

Au point de vue biochimique, LASHEN *et al.* (1970) ont analysé au mois de janvier la teneur en sucres, protéines et acides aminés de quatre variétés connues pour leur sensibilité différente au gel. Ces auteurs constatent que la résistance s'accompagne d'une teneur plus élevée en sucres et en protéines et d'une faible teneur en acides aminés totaux.

BOSI et ZOCCA (1971) suivent, au cours du repos hivernal, la variation de la teneur en sucres solubles et en amidon des bourgeons floraux de deux variétés sensibles et de deux variétés résistantes. S'ils n'observent pas de différence quant à leur teneur en amidon, les variétés résistantes ont des bourgeons floraux dont la teneur en sucres solubles semble plus élevée.

Enfin TABUENCA (1975) essaie de relier la chute des bourgeons floraux à la composition en glucides et en composés azotés des rameaux de l'arbre. Elle conclut à une corrélation négative entre la concentration en amidon et la chute des bourgeons, à une absence de corrélation entre cette chute et la teneur en sucres réducteurs, non réducteurs, en hemicelluloses et en composés azotés.

On peut faire les remarques suivantes concernant ces travaux :

• D'une manière générale, il n'a pas été mis en parallèle de façon indiscutable, l'évolution de la sensibilité au gel et le stade de développement de l'ébauche florale.

• Le rôle qui est attribué aux sucres solubles et qui tiendrait à leur effet protecteur (MAZUR, 1969 et 1970) est-il prépondérant?

• Enfin, on ne s'est pas intéressé à la teneur en eau des tissus. Cette teneur peut-elle expliquer les variations de sensibilité que l'on a jusqu'ici observées?

Dans l'étude que nous présentons ici, nous montrerons comment évoluent : la croissance de l'ébauche florale, sa teneur en sucres solubles, sa teneur en eau et sa sensibilité au gel depuis la fin de sa morphogenèse (stade G. de MONET et BASTARD, 1968) jusqu'à la floraison.

## Matériel et méthodes

### 1. — *Matériel végétal*

Les prélèvements ont toujours eu lieu sur le même arbre de la variété « Robin ». Il avait 4 ans lors du premier prélèvement en octobre 1974.

### 2. — *Méthodes*

a) *Étude de la croissance des ébauches florales.*

Chaque semaine, un rameau est prélevé (rameau mixte ayant 30 cm de long environ) 10 bourgeons floraux sont débarrassés de leurs écailles, les ébauches florales mises à nu sont détachées du rameau (à l'aide d'un fragment de lame de rasoir porté par un mandrin) et pesées séparément sur une balance microanalytique SETARAM.

Le poids moyen des dix ébauches servira à établir la courbe de croissance. C'est un échantillon petit qui nous est imposé par la longueur de l'analyse à laquelle chaque ébauche florale est soumise. La similitude des courbes obtenues d'une année à l'autre, le faible écart type du poids des ébauches que nous avons constaté à chaque prélèvement montrent qu'un tel échantillon peut être satisfaisant.

b) *Dosage des sucres solubles.*

Il s'agit d'un micro dosage effectué sur chacune des dix ébauches florales qui ont servi à établir la courbe de croissance.

L'extraction des sucres est obtenue par diffusion dans l'alcool éthylique à 50 p. cent.

Pratiquement, l'ébauche séjourne successivement dans trois tubes hermétiques contenant 100 ml d'alcool chauffé à 80 °C au bain-marie. Le séjour dans chacun des deux premiers tubes est de une heure, il est de une heure trente dans le dernier tube; l'expérience montre qu'au-delà de la troisième extraction les quantités de sucres susceptibles de diffuser encore sont négligeables. Lorsque la taille des ébauches atteint 4 mg, le volume d'alcool d'extraction est doublé.

A la fin des extractions, on procède au dosage colorimétrique des sucres contenus dans chaque tube et l'on ajoute les trois résultats pour connaître la teneur en sucres solubles de chaque ébauche florale.

Nous avons retenu pour le dosage colorimétrique des sucres la méthode à l'Orcinol sulfurique préconisée par MONTREUIL et SPICK (1963). Dans les tubes d'extraction, nous ajoutons 200 $\mu$l d'Orcinol (solution de 1,5 g d'Orcinol dans 100 ml d'acide sulfurique à 30 p. cent) et 1 500 $\mu$l d'acide sulfurique à 60 p. cent. Les tubes sont bouchés, agités pour bien mélanger le réactif et la solution, puis placés dans un bain-marie à 80 °C pendant 20 minutes. La couleur brune qui apparaît est mesurée au spectrophotomètre à 420 m$\mu$.

Les sucres extraits sont un mélange d'oses qui donnent le même complexe coloré avec l'orcinol. Notre dosage est donc global; en introduisant dans notre analyse deux tubes à concentration connue de glucose, il nous est possible d'ex-

primer la teneur en sucre des ébauches florales en équivalents glucose. L'utilisation de témoins à concentration connue est de plus indispensable car la réaction à l'orcinol n'est pas toujours fidèle.

c) *Teneur en eau des ébauches florales*

Elle est mesurée elle aussi toutes les semaines sur 10 ébauches florales provenant du même rameau sur lequel ont été prélevés les bourgeons destinés au dosage des sucres. Ces ébauches sont pesées immédiatement après leur prélèvement puis placées dans une étuve à dessiccation dont la température est maintenue à 60 °C. Leur séjour dans l'étuve est prolongé jusqu'à poids sec constant. La teneur en eau s'obtient par différence entre le poids frais et le poids sec des bourgeons.

d) *Résistance au gel*

Nous avons utilisé un cryostad sur lequel l'index du thermomètre à contact est entraîné par un moteur synchrone de telle sorte que la température affichée s'abaisse uniformément d'un degré par heure. Des rameaux sont prélevés chaque semaine et placés individuellement dans un tube à essais fermé qui est plongé dans le cryostad. Lorsque les premiers dégâts de gel sont susceptibles d'apparaître, un rameau est extrait du cryostad toutes les fois que la température a baissé de un degré, les écailles de ses bourgeons floraux sont enlevées et l'on note les ébauches florales détruites et non détruites (les dégâts sont visibles dans un très bref délai). On peut observer ainsi l'effet des températures basses degré par degré depuis l'apparition des premiers bourgeons détruits jusqu'à la destruction totale des bourgeons sur les rameaux.

De préférence à l'indice de PROEBSTING et FOGLE (1956) qui ne tient compte que de la température détruisant 50 p. cent des bourgeons floraux, nous nous sommes intéressés aux températures entraînant la mort de 10 p. cent des bourgeons (début des dégâts) et celles entraînant la mort de 90 p. cent des bourgeons (dégâts très graves) ceci va permettre de mettre en évidence l'hétérogénéité du comportement des bourgeons.

## Résultats

### I. — *Évolution de la croissance et de la teneur en sucres solubles des ébauches florales*

Sur la figure 1 nous avons tracé les courbes de croissance et de teneurs en sucres solubles observées au cours de trois périodes hivernales 1974-1975, 1975-1976, 1976-1977.

1. — *Les courbes de croissance*

Ces courbes ont une forme semblable que l'on peut dissocier en trois phases : croissance lente, réactivation, croissance rapide. Mais la durée des phases varie d'une année à l'autre : en 1974-1975 et en 1976-1977 la réactivation a eu lieu très tôt

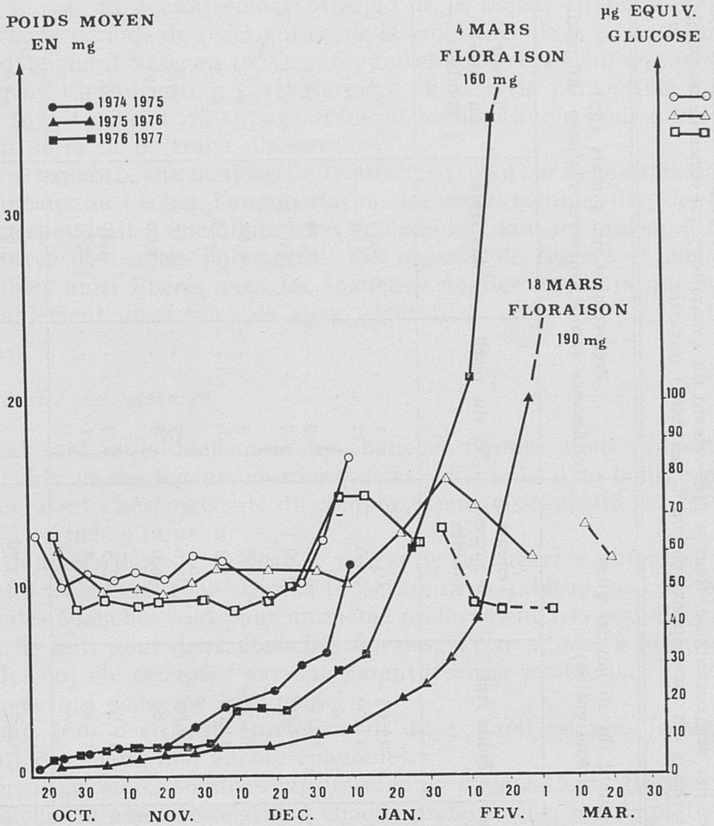



FIG. 1. — *Évolution du poids moyen en mg* (symboles noirs) *et de la teneur moyenne en sucres solubles exprimée en µg d'équivalents glucose par mg de matière fraîche* (symboles blancs) *des ébauches florales du Pêcher, pendant trois années consécutives :*

— période hivernale 1974-1975 : symboles ronds,
— période hivernale 1975-1976 : symboles triangles,
— période hivernale 1976-1977 : symboles carrés.

(fin novembre) elle a été beaucoup plus tardive en 1975-1976. Ces décalages perçus dès le mois de décembre ont valeur prévisionnelle : en 1975 et en 1977 on pouvait s'attendre à une floraison précoce et donc à des risques élevés de destruction de la récolte par des gelées tardives. En 1976 la floraison ne pouvait être que tardive et les risques de gelées faibles.

La fin de la croissance lente (20 novembre en 1974, 10 janvier en 1975 et 30 novembre en 1976) de l'ébauche florale est considérée par certains auteurs (BROWN et KOTOB, 1957) comme la fin de la dormance des bourgeons floraux.

2. — *Les courbes de variation de la teneur en sucres solubles des ébauches florales*

Là encore les trois courbes présentent des caractéristiques très voisines : une période pendant laquelle la teneur en sucre des ébauches (exprimée en µg d'équivalents glucose par mg de matière fraîche) est remarquablement stable et oscille

TABLEAU I

*Hétérogénéité comparée de trois échantillons prélevés aux trois différents stades du développement de la fleur*

Les poids frais sont exprimés en mg; les teneurs en sucres solubles sont exprimées en µg d'équivalents glucose par mg de matière fraîche. Les ébauches prélevées à la même aisselle foliaire sont réunies par une parenthèse. Pour le prélèvement du 4 mars 1977 qui concerne les pistils, les 5 premiers appartenaient à des fleurs encore fermées, les 5 suivants appartenaient à des fleurs ouvertes.

| Prélèvement du 28 octobre 1976 (croissance lente) | | | Prélèvement du 26 janvier 1977 (réactivation) | | | Prélèvement du 4 mars 1977 (croissance rapide, mesures réalisées sur pistil) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| N° de l'ébauche florale | Poids frais | Teneurs en sucres solubles | N° de l'ébauche florale | Poids frais | Teneurs en sucres solubles | N° du pistil | Poids frais | Teneur en sucres solubles |
| 1 | 1,220 | 48,6 | 1 | 11,65 | 63,7 | 1 | 2,74 | 53,2 |
| 2 | 1,020 | 39,3 | 2 | 11,66 | 65,6 | 2 | 2,64 | 45,8 |
| 3 | 1,099 | 43,3 | 3 | 13,38 | 57,2 | 3 | 3,17 | 46,4 |
| 4 | 1,086 | 34,1 | 4 | 12,90 | 63,9 | 4 | 2,87 | 42,2 |
| 5 | 1,267 | 49,4 | 5 | 13,36 | 63,0 | 5 | 2,65 | 49,9 |
| 6 | 1,418 | 38,7 | 6 | 11,08 | 75,3 | 6 | 3,55 | 44,3 |
| 7 | 1,325 | 52,0 | 7 | 12,62 | 61,6 | 7 | 3,16 | 39,8 |
| 8 | 1,416 | 41,9 | 8 | 12,82 | 59,6 | 8 | 3,09 | 45,0 |
| 9 | 1,168 | 50,9 | 9 | 11,62 | 63,5 | 9 | 3,40 | 39,7 |
| 10 | 1,091 | 53,2 | 10 | 12,20 | 64,2 | 10 | 2,83 | 50,4 |
| Moyennes | 1,211 | 45,14 | | 12,32 | 63,76 | | 3,01 | 45,67 |
| Écarts types | 0,14 | 6,55 | | 0,80 | 4,74 | | 0,31 | 4,49 |

autour de 50 µg; un accroissement brusque de la teneur en sucres solubles qui coïncide avec la période de réactivation de la croissance de la jeune fleur (le point maximum atteignant 80 µg en 1975); enfin une chute de la teneur en sucres solubles avec retour au niveau initial. Cette dernière phase n'est perceptible qu'au cours des années 1975-1976 et 1976-1977 pour lesquelles nous avons poursuivi les dosages sur le pistil de la fleur (traits discontinus).

Si l'on se rapporte aux données de TABUENCA (1969) sur l'évolution des glucides dans les rameaux du Pêcher, l'augmentation des sucres solubles dans les bourgeons floraux correspondrait à une diminution de l'amidon dans les rameaux. Il y aurait donc hydrolyse des sucres polymérisés des organes de réserve et migration des sucres solubles ainsi libérés vers les ébauches florales en cours de réactivation (vraisemblablement aussi vers les apex végétatifs).

### 3) *Hétérogénéité des mesures*

En analysant individuellement les ébauches florales, nous pensions pouvoir mettre en évidence des teneurs en sucres assez différentes d'un bourgeon à l'autre qui expliqueraient l'hétérogénéité du comportement vis-à-vis du gel des différents bourgeons d'un même rameau.

Nous donnons dans le tableau 1 une série de mesures obtenues pour trois prélèvements réalisés en 1976-1977. A la lecture de ce tableau, on constate que les poids frais des ébauches sont pour un même prélèvement très peu éloignés les uns des autres; le fait, pour deux ébauches florales, d'être situées à la même aisselle foliaire (elles ont été groupées par une parenthèse) ne semble pas les rendre plus proches en ce qui concerne leur poids.

Le poids frais des pistils (prélèvement du 4 mars) est plus faible lorsqu'ils proviennent des fleurs non encore épanouies.

La teneur en sucres solubles exprimée en µg d'équivalents glucose par mg de matière fraîche est assez homogène à chaque prélèvement, seul le prélèvement du 28 octobre paraît un peu plus hétérogène.

Quoi qu'il en soit, nous n'avons pas pu, à partir de ces données individuelles, expliquer l'hétérogénéité de comportement des bourgeons floraux face au gel.

## II. — *Évolution de la résistance au gel des ébauches florales compte tenu de leur croissance, de leur teneur en sucre et de leur teneur en eau*

### 1) *Hiver 1975-1976*

La figure 2 rassemble pour la saison hivernale 1975-1976, la courbe de croissance des ébauches florales, la variation de la teneur en sucres solubles (exprimée en µg d'équivalents glucose par mg de matière fraîche) et dans la partie supérieure du graphique, la variation de la teneur en eau des ébauches (exprimée en p. cent du poids frais) et la variation de la résistance au gel (segments limités par deux flèches, celle du haut désignant la température où 10 p. cent des ébauches sont détruites, celle du bas désignant la température où 90 p. cent des ébauches sont détruites).

On distingue dans l'évolution de la résistance du bourgeon floral trois phases :

- Une phase pendant laquelle les bourgeons ont une résistance au gel très élevée (10 p. cent des bourgeons sont détruits à — 15 °C et 90 p. cent le sont à

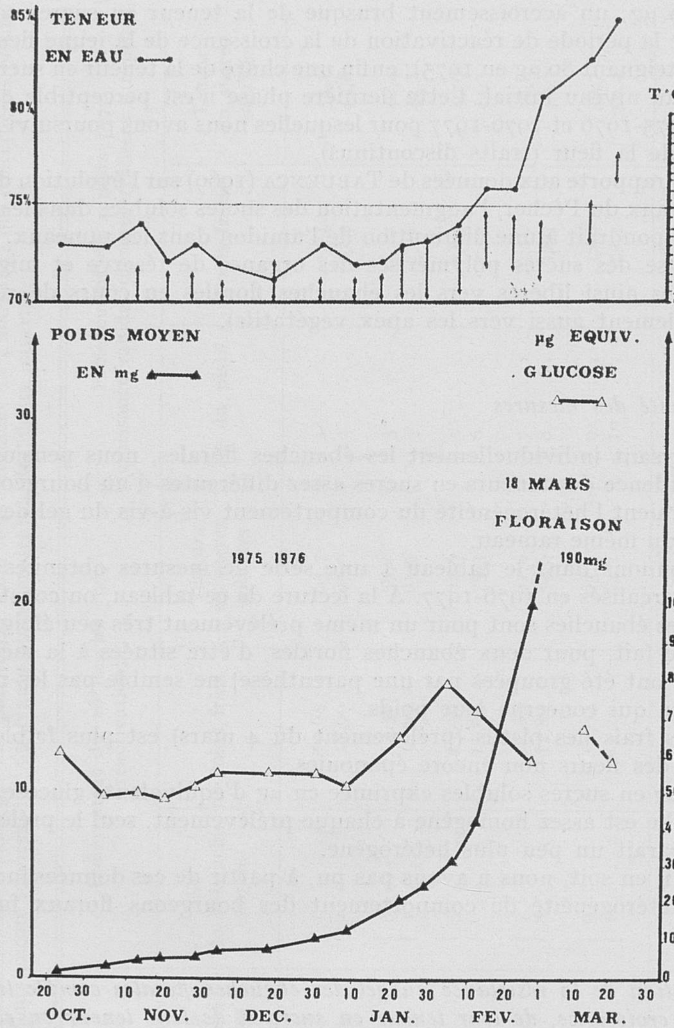



FIG. 2. — En bas : *évolution de la croissance* (triangles noirs) *et de la teneur en sucres* (triangles blancs) *des ébauches florales pendant la période hivernale* 1975-1976.
En haut : *évolution de la teneur en eau des ébauches exprimée en pourcentage du poids frais de la jeune fleur* (ronds noirs) *et leur résistance au gel* (segments limités par deux flèches) *pendant la même période.* La flèche du haut se termine en face de la température ou 10 p. cent des ébauches sont détruites, celle du bas se termine en face de la température où 90 p. cent des ébauches florales sont détruites.
Les deux graphiques ont la même échelle des temps.

— 20 °C). Cette résistance élevée coïncide avec la période de croissance lente de la fleur. Si l'on s'intéresse à la teneur en sucres des tissus, elle est, nous l'avons vu, remarquablement stable (55 à 60 µg d'équivalents glucose par mg de matière fraîche); leur teneur en eau enfin varie peu et peut être considérée comme assez faible (72 à 74 p. cent du poids frais).

Cette première phase débute le 20 octobre 1975 et s'achève le 22 janvier 1976.

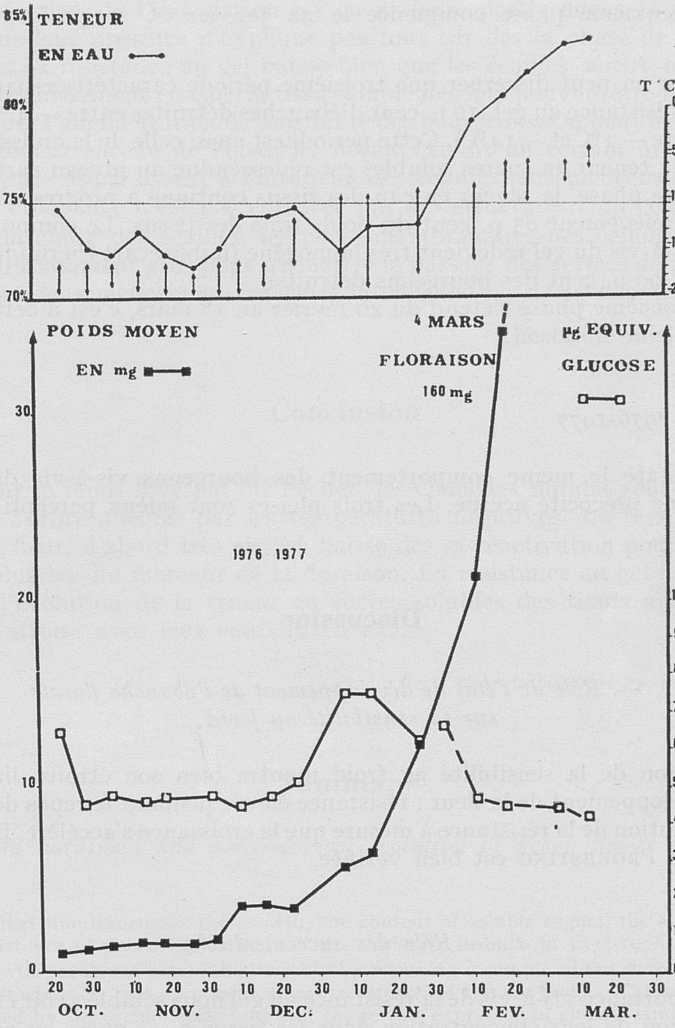



Fig. 3. — En bas : *évolution de la croissance* (carrés noirs) *et de la teneur en sucres* (carrés blancs) *des ébauches florales pendant la période hivernale* 1976-1977.
En haut : *évolution de la teneur en eau exprimée en pourcentage du poids frais de la jeune fleur* (ronds noirs) *et leur résistance au gel* (segments limités par deux flèches) *pendant la même période.*

• Une phase caractérisée par une augmentation de l'hétérogénéité de la résistance au froid des bourgeons. La résistance de certains bourgeons est encore très élevée (destruction de 90 p. cent des ébauches entre — 17 °C et — 20 °C) mais d'autres ont une sensibilité au froid qui s'est sensiblement accrue (destruction de 10 p. cent des bourgeons entre — 11 °C et — 14 °C). Cette hétérogénéité s'exprime bien par la longueur des segments qui limitent l'étendue de la résistance. Au cours de cette période, qui est celle de la réactivation de la croissance des bourgeons, leur teneur en sucres solubles s'accroît très vite, leur teneur en eau va présenter une ascension progressive jusqu'à atteindre 80 p. cent du poids frais des tissus.

Cette deuxième phase commence le 22 janvier et se prolonge jusqu'au 26 février.

• Enfin on peut discerner une troisième période caractérisée par une chute rapide de la résistance au gel (10 p. cent d'ébauches détruites entre — 4 °C et — 9 °C, 90 p. cent entre — 7 °C et — 14 °C). Cette période est aussi celle de la croissance rapide de la fleur; la teneur en sucres solubles est redescendue au niveau caractéristique de la première phase, la teneur en eau des tissus continue à progresser atteignant au dernier prélèvement 85 p. cent du poids frais des tissus. Le comportement du bourgeon vis-à-vis du gel redevient très homogène (faible écart thermique séparant 10 p. cent et 90 p. cent des bourgeons détruits).

Cette troisième phase s'étend du 26 février au 18 mars, c'est à cette date que se situe la pleine floraison.

2. — *Hiver 1976-1977*

On constate le même comportement des bourgeons vis-à-vis du gel avec cependant une précocité accrue. Les trois phases sont mieux perceptibles encore (fig. 3).

## Discussion

### 1. — *Rôle de l'état de développement de l'ébauche florale sur sa sensibilité au froid*

L'évolution de la sensibilité au froid montre bien son étroite liaison avec l'état de développement de la fleur : résistance élevée pendant le repos de l'ébauche florale, diminution de la résistance à mesure que la croissance s'accélère. La première hypothèse de PROEBSTING est bien vérifiée.

### 2. — *Rôle des sucres solubles*

Leur importance vis-à-vis de la résistance au gel nous semble avoir été exagérée car la variation de leur concentration dans les tissus n'est guère en accord avec l'évolution de la résistance au gel. Au contraire même, pendant la phase de réactivation du bourgeon, la teneur en sucres solubles s'accroît alors que la résistance des ébauches diminue.

### 3. — *Rôle de la teneur en eau des tissus*

La sensibilité au gel de la jeune fleur évolue dans le même sens que la teneur en eau des tissus, la sensibilité maximale étant atteinte aux approches et pendant la floraison alors que la teneur en eau est la plus élevée.

Nous savons que la surfusion est le phénomène qui protège les tissus de la destruction par les températures basses; MODLIBOWSKA (1961) considère que deux facteurs sont susceptibles de favoriser la surfusion : la protection du tissu de l'inoculation par la glace et la réduction de son contenu en eau libre.

La protection de l'inoculation est en majeure partie due à la présence des écailles, mais leur présence n'explique pas tout car dès la phase de réactivation du bourgeon sa résistance au gel baisse bien que les écailles soient toujours présentes. L'enrichissement en eau du tissu semble dès lors pouvoir être mise en cause pour expliquer l'augmentation de sensibilité des bourgeons. On peut penser en effet, lorsque la teneur en eau de l'ébauche florale atteint un certain niveau, que les germes de glace apparaissent à l'intérieur des cellules (ensemencement endogène) et que leur croissance n'est pas entravée par des structures trop complexes.

Après la chute des écailles, les pores membranaires des cellules de la jeune fleur sont suffisamment gros pour permettre le passage des germes de glace venant de l'extérieur (ensemencement exogène) la congélation de la fleur est alors très rapide.

## Conclusion

Pendant le repos hivernal du Pêcher, les ébauches florales sont les premiers organes de l'arbre affectés par les températures négatives. La résistance au gel de la jeune fleur, d'abord très élevée, baisse dès sa réactivation pour atteindre le niveau le plus bas au moment de la floraison. La résistance au gel ne semble pas associée à l'évolution de la teneur en sucres solubles des tissus mais évolue de façon plus étroite avec leur contenu en eau.

*Reçu pour publication en juillet 1977.*

## Summary


*Cold hardiness and physiological evolution of peach flower buds*

We studied simultaneously the growth, the content of soluble sugars, the amount of water and frost resistance of peach flower buds of the variety « Robin » in 1975-1976 and 1976-1977.

The growth curve was established weekly by weighing a sample of ten flower buds. Sugar was extracted separatly into 50 p. cent alcool from each of the ten buds. The amount of sugar was determined by the orcinol technique and the results expressed in glucose equivalents per mg of fresh weight.

The amount of water in the flower bud was obtained by the difference in fresh and dry weight of a weekly sample of ten buds.

To study cold resistance we used a freezing bath in which the temperature was progressively lowered 1 °C per hour we noted each week the temperature which distroyed 10 p. cent and 90 p. cent of the flower buds.

The results of the study are summarized as follows:

- the floral growth curve allows an early estimate of the date of flowering,
- the change in the content of soluble sugars is not correlated with cold resistance,
- the cold resistance of the buds can be separated into three stages: during slow growth the resistance is very high, when growth resumes the resistance is significantly lower, this resistance is very low after the fall of the scales at the approch of flowering.

The increase in the water content of the flower bud which occurs when growth resumes, may explain the increase in cold sensitivity in spite of the presence of scales preventing seeding by external ice crystals. During this period, seeding would be of internal origin.

## Références bibliographiques

BLAKE M. A., 1935. Types of varietal hardiness in the peach. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **33**, 240-244.

BOSI A., ZOCCA A., 1971. Variazioni dei carboidrati e resistenza al freddo nelle gemme di pesco. *Riv. Ortoflorofruttic. Ital.*, **55**, 118-123.

BROWN D. S., KOTOB F. A., 1957. Growth of flower buds of apricot, peach and pear during the rest period. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **69**, 158-164.

CULLINAN F. P., WEINBERGER J. H., 1934. Studies on the resistance of peach buds to injury at low temperatures. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **32**, 244-251.

EDGERTON L. J., 1954. Fluctuations in the cold hardiness of peach flower buds. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.* **64**, 175-180.

KNOWLTON H. E., 1936. Experiments in the hardiness of peach and apple fruit buds. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **34**, 328-341.

LASHEN A. M., CHAPLIN C. E., HARNON R. N., 1970. Biochemical comparison of fruit buds in five peach cultivars of varying degrees of cold hardiness. *J. Amer. Soc. hort. Sci.*, **95**, 177-181.

MAZUR P., 1969. Freezing injury of plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **20**, 419-448.

MAZUR P., 1970. Criobiology: the freezing of biological systems. *Science*, **168**, 939-949.

MODLIBOWSKA I., 1961. Sur les mécanismes du gel et de la reprise d'une vie normale au retour de la température ordinaire. *Bull. Soc. fr. Physiol. vég.*, **7**, 123-133.

MONET R., BASTARD Y., 1968. Morphogénèse et croissance des ébauches florales chez le Pêcher (*Prunus persica* L. BATSCH). *C.R. Acad. Sci., Paris*, Ser. D, **266**, 1 845-1 848.

MONET R., BASTARD Y., 1971. Effets d'une température modérément élevée : 25 °C, sur les bourgeons floraux du Pêcher. *Physiol. vég.*, **9**, 209-226.

MONTREUIL J., SPICK G., 1963. Méthodes colorimétriques de dosage des glucides totaux. *Monographies du laboratoire de chimie biologique de la Faculté des Sciences. de Lille*, 21-30.

PROEBSTING E. L., FOGLE H. W., 1956. An apparatus and method of analysis for studying fruit bud hardiness. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **68**, 5-15.

PROEBSTING E. L., 1959. Cold hardiness of « Elberta » fruit buds during four Winters. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **74**, 144-153.

PROEBSTING E. L., MILLS H. H., 1961. Loss of hardiness by peach fruit buds has related to their morphological development during the pre-bloom and bloom period. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **78**, 104-110.

PROEBSTING E. L., 1963. The role of air temperature and bud development in determining hardiness of dormant « Elberta » peach fruit buds. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **83**, 259-269.

TABUENCA M., 1969. Variaciones en la concentracion de hidratos de carbono en arboles frutales durante los periodos de reposo invernal y latencia. *An. Estac. exp. Aula Dei*, **10**, 725-743.

TABUENCA M., 1975. Relacion entre caida de yemas de flor en melocotones y concentracion de hidratos de carbono y de compuesto nitrogenados. *An. Estac. exp. Aula Dei*, **13**, 150-166.

*Note.* Dans un article récent, LASHEN et CHAPLIN (1977), *J. Amer. Soc. hort. Sci.*, **102**, 171-177, ont étudié l'évolution quantitative de treize sucres solubles dans différents organes et notamment dans les ébauches florales de deux variétés de Pêcher, l'une résistante et l'autre sensible au gel. Leurs données ne montrent pas de différences significatives entre les deux variétés concernant l'accumulation de ces sucres.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (6), 729-735.

# Analysis of some quantitative characters using the monosomic series of the common wheat variety « Probus »

G. KLEIJER and A. FOSSATI

*Station fédérale de recherches agronomiques de Changins, CH-1260 Nyon (Suisse)*

## Summary

By means of cloning, several plants were obtained from the selfed seed of 17 different monosomics of the Swiss wheat variety " Probus ". Measurements of several quantitative characters of agronomic interest, such as time of ear emergence, number of tillers, plant height, peduncle length, spike length, number of spikelets/spike, number of grains/spike, grain weight/spike, number of grains/spikelet, thousand kernel weight, protein and Zeleny, were made on these plants grown in the field. An effect of monosomy on a number of these characters was observed. Plant height was influenced by most of the monosomics, some were taller, others shorter than their corresponding disomics. A rather general reduction of fertility was observed. The results and the advantage and disadvantage of the cloning method are discussed.

## Introduction

In common wheat, *Triticum aestivum* L., the ability to develop aneuploids, monosomics, nullisomics, telosomics and tetrasomics (SEARS, 1954), and whole chromosome substitution lines (SEARS, 1953) has opened up new ways of investigating the genetics of quantitative and qualitative characters. Chromosome substitution lines have been used many times to carry out genetical analyses of yield, plant height, thousand kernel weight, percentage grain protein and many other characters (KUSPIRA and UNRAU, 1958; LAW, 1968; SASAKI *et al.*, 1968). Monosomics have mainly been used to locate genes affecting qualitative characters (SEARS, 1954), but sometimes, also quantitative (LARSON, 1959). In order to carry out a genetical analysis of quantitative characters, a great number of plants are needed. There is no problem when chromosome substitution lines are used, because they are true-breeding. Monosomic $F_1$ and $F_2$ analysis implicate either a lot of work with chromosome countings or, when there are no countings, a mixture of plants

with 41 and 42 chromosomes, which can lessen the effectiveness of the monosomic method (as proved for quality studies by SCHMIDT *et al.*, 1966).

In our investigation, some quantitative characters were measured using the monosomic series of " Probus ". In order to avoid numerous chromosome countings and, at the same time, to be able to work with a greater number of plants, these were cloned.

## Materiel and methods

The material used in this study is the monosomic series of the wheat variety " Probus ", which has been developed by recurrent backcrossing using the monosomics of " Kharkov " as the non-recurrent parent (SEARS, 1953). " Probus " is a Swiss winter wheat variety, which has been on the recommended list since 1954 and is still cultivated for its excellent baking quality. Most monosomics have reached the fifth backcross generation, two monosomics the fourth (6D and 7D) and three the third (1A, 2B and 7B). Because of univalent shift (PERSON, 1956), monosomics 3A, 6A, 5B and 2D were not included in the experiments.

Ten to fifteen seeds from selfed monosomic plants as well as euploid Probus were sown in August 1972. At the beginning of October, when each plant (monosomic, disomic and " Probus ") had approximately three tillers, cloning was carried out by separating the tillers to give three plantlets. The tillers were placed in jiffy pots (∅ 6 cm) and kept in the glasshouse at 20 °C for two weeks. The plants were then vernalized in a nursery bed. In the first week of March, the plants were cloned a second time so that 12 to 18 plants per original seed were obtained. After two weeks in the glass-house at 20 °C, the clones were planted in the field grouped into three replications of each 6 plants. One replication was incomplete as a result of a shortage of plants.

Determination of the chromosome number was made from squashes of root tips pretreated with bromonaphthalene and stained by the Feulgen method.

The characters, time of ear emergence, plant height, peduncle lenght, spike length, number of spikelets/spike, number of grains/spike, grain weight/spike, and number of grains/spikelet were measured on the main culm of each plant. For the characters thousand kernel weight, protein and Zeleny index, the six plants of each plot were pooled. Except for the time of ear emergence, all data were collected on mature plants after harvesting. Protein content was measured from flour obtained by sampling the combined grain of six plants. The nitrogen content was determined using the Kjeldahl method and the protein percentage by multiplying these values by 6.25. Zeleny index was also obtained from the same flour sample.

The number of collected data changed with the different monosomic and disomic (from the selfed monosomic plants) and with the different characters. It varied for the monosomics from 32 (7B) to 161 (3B) for the disomics from 12 (5D) to 108 (2B) and for " Probus " 227 concerning the data collected on the main culm. The number of data for the other characters was generally lower. No disomics were available for chromosome 4A and 3B.

For statistical analyses, all the plants of the same monosomic line with a somatic chromosome number of 41, as well as the plants with 42 chromosomes (all descendants of a selfed monosomic plant) were grouped. The average and variance of each character for each monosomic and disomic were calculated. With

these data, a t-test was carried out in order to see whether the differences between the average of a monosomic and its corresponding disomic were significant. Due to technical reasons, it was not possible to test the effect of cloning on the different monosomics and their corresponding disomics. The monosomics 4A and 3B were compared with the average of all disomics.

## Results

First a comparison was made between the disomics of the different chromosomes and "Probus". All disomics had several characters significantly different from "Probus" indicating that genes from the non-recurrent parent, "Kharkov", were still present in the monosomic lines. For this reason, the monosomics were not compared with "Probus", but with their corresponding disomics in order to reduce the confounding effects that these genes might have on the monosomic — disomic differences under study.

The results of the comparisons between the monosomics and their corresponding disomics are presented in table 1. For "Probus", the mean measurements are given. The values for each chromosome represent the difference between the average of all monosomic plants and that of the corresponding disomics.

Concerning time of ear emergence, most monosomics were later. The differences were significant for monosomic 4A, 2B, 3B, 6B and 3D.

Tillering was reduced by monosomic 1B, 2B, 3B, 1D and 7D. Only one monosomic, 6D, increased the number of tillers.

Most monosomics influenced plant height. Three monosomics, 1A, 5A and 1B, increased plant height. All the other monosomics tested were shorter, although for 1D, 3D, 5D and 6D the differences were not significant. Peduncle length was decreased for 9 monosomics, 2A, 4A, 2B, 3B, 6B, 3D, 4D, 6D and 7D. Five monosomics, 1A, 4A, 1B, 6B and 7B had longer spikes than their corresponding disomics, whereas spikes of the monosomics 5A, 2B, 4B, 4D, 5D and 7D were shorter.

Some characters associated with fertility and yield, such as number of spikelets/spike, grain number/spike, grain weight/spike, number of grains/spikelet and thousand kernel weight were determined. The number of spikelets/spike did not differ significantly from the disomics for most of the monosomics. Only 7A, 4B and 7D showed a reduction in number of spikelets. All the monosomics (except 7B) showed a reduction in number of grains/spike. Differences for the homoeologous group 4 and for 7A, 1B, 2B, 3B, 6B, 1D, 3D, 6D and 7D were significant. The reduction of grain weight/spike was rather general and most of the differences were significant, except for monosomic 1A, 1B, 2A and 7B. The number of grains/spikelet was reduced for most of the monosomics, with significant differences for group 4, 1B, 2B, 3B, 6B, 1D, 3D, 6D and 7D. Only monosomic 7B showed an increase. Monosomic 1A and 1B showed a higher thousand kernel weight. Most of the other monosomics had a significantly lower thousand kernel weight.

Protein content did not change for a number of monosomics and no monosomic had significantly less protein. Monosomic 1A, 5A, 1B, 2B, 3B, 3D and 4D had a higher protein content. Five monosomics, 1B, 4B, 1D, 3D and 7D showed a

TABLE I

*Monosomic-disomic differences for each of the 17 monosomic lines of the variety « Probus »*

| Monosomics | Time ear emergence | Number tillers | Height (cm) | Peduncle lenght (cm) | Spike length (cm) | Number spikelets / spike | Number grains / spike | Grain weight / spike (g) | Number grains / spikelet | Thousand kernel weight(g) | Protein | Zeleny |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1A . . . . | — 1,02 | — 1.37 | + 9.09** | + 1.03 | + 1.68** | + 0.29 | — 1.17 | — 0.02 | — 0.13 | + 4.44** | + 2.73** | — 3.50 |
| 1B . . . . | — 0,30 | — 2.05* | + 6.35** | + 0.30 | + 1.52* | + 1.13 | — 7.46* | — 0.18 | — 0.55** | + 2.68* | + 1.61** | — 10.79** |
| 1D . . . . | + 0.93 | — 2.77** | — 2.46 | — 1.49 | — 0.13 | — 0.48 | — 9.05** | — 0.36** | — 0.44** | + 0.02 | + 1.44 | — 19.33** |
| 2A . . . . | + 0.10 | — 0.04 | — 6.25** | — 2.43* | + 0.40 | — 0.12 | — 1.00 | — 0.15 | — 0.03 | — 1.77* | — 0.30 | — 4.56 |
| 2B . . . . | + 1,61* | — 1.25* | — 21.75** | — 9.69** | — 1.10** | — 0.77 | — 14.83** | — 0.85** | — 0.72** | — 3.49** | + 1.88** | + 7.21 |
| 3B . . . . | + 3.52** | — 1.90** | — 4.21** | — 5.47** | — 0.04 | — 0.02 | — 8.61** | — 0.49** | — 0.42** | — 3.74** | + 2.44** | + 1.01 |
| 3D . . . . | + 1.95* | — 0.23 | — 1.00 | — 3.16** | — 0.78 | — 0.04 | — 3.44* | — 0.21** | — 0.21* | — 5.03** | + 2.13** | — 8.00* |
| 4A . . . . | + 1.84** | — 0.60 | — 8.05** | — 4.43** | + 0.42* | — 0.17 | — 6.36** | — 0.30** | — 0.35** | — 0.59 | — 0.12 | + 2,53 |
| 4B . . . . | — 0.65 | + 0.17 | — 2.62** | + 0.72 | — 0.62* | — 0.88** | — 4.62** | — 0.24** | — 0.15* | — 0.60 | — 0.47 | — 5.63** |
| 4D . . . . | + 0.70 | + 0.18 | — 6.27** | — 2.94** | — 1.25** | — 0.65 | — 10.61** | — 0.43** | — 0.51** | — 2.88** | + 1.52** | + 6.13** |
| 5A . . . . | + 0.50 | + 0.40 | + 5.56** | + 1.40 | — 0.90** | — 0.38 | — 3.08 | — 0.46** | — 0.13 | — 6.24** | + 1.35* | + 5.50* |
| 5D . . . . | + 0.63 | — 0.68 | — 1.41 | — 2.13 | — 2.10** | — 0.47 | — 1.21 | — 0.49** | 0.00 | — 9.84** | + 1.36 | — 4.39 |
| 6B . . . . | + 1.67** | — 0.91 | — 6.43** | — 3.11* | + 1.18** | + 0.47 | — 5.09* | — 0.31** | — 0.33** | — 2.91 | + 0.12 | — 2.48 |
| 6D . . . . | + 0.13 | + 1.74** | — 0.21 | — 1.77* | + 0.51 | + 0.47 | — 3.96** | — 0.31** | — 0.26** | — 2.56** | — 0.17 | — 1.48 |
| 7A . . . . | + 1.04 | — 0.40 | — 3.99* | — 1.81 | — 0.15 | — 1.58** | — 5.67** | — 0.28** | — 0.10 | — 1.88 | + 0.25 | + 0.78 |
| 7B . . . . | + 0.16 | + 0.31 | — 4.50** | — 1.02 | + 0.95* | + 0.18 | + 5.17* | + 0.11 | + 0.28* | — 3.68** | — 0.30 | — 1.23 |
| 7D . . . . | + 0.47 | — 3.12** | — 7.70** | — 2.39* | — 1.98** | — 1.28** | — 10.91** | — 0.64** | — 0.43** | — 5.49** | + 0.37 | — 13.29** |
| "Probus". | 11.76 | 9.04 | 104.86 | 46.10 | 11.36 | 17.61 | 39.95 | 1.52 | 2.24 | 37.15 | 14.90 | 56.86 |

(*) Significant at the 5 p. cent level.
(**) Significant at the 1 p. cent level.

significant decrease of the sedimentation value (Zeleny). Two monosomics, 5A and 4D had a higher value.

It has been observed that monosomic 5D was late in ripening and that plants monosomic for 5A had ears which showed the speltoid character.

## Discussion

Comparison of the disomics (plants with 42 chromosomes, derived from the selfed monosomic plant) with " Probus " has shown that they differed significantly from " Probus " for several characters. This indicates that the number of back-crosses so far carried out is not sufficient to restore the genetic constitution of " Probus" in the monosomic lines. Further backcrosses are necessary.

Although most studies have been carried out by crossing a monosomic series with the variety to be investigated, in order to locate genes affecting qualitative (SEARS, 1954) or quantitative characters (LARSON, 1959), some work has been done on direct observations of monosomic series. LAW and WORLAND (1972) analysed the monosomics of the variety "Bersée" and found differences between monosomics in the number of tillers when the plants were cultivated in the field or in the glasshouse. In the field, none of the monosomics showed a lower number of tillers, but several had more tillers. In the case of " Probus", only one monosomic, 6D, showed an increase.

The tendency of monosomic 1A, 1B and 5A to be taller was also found among the monosomics of " Bersée " (LAW and WORLAND, 1972). Monosomic 5A of " Chinese Spring " (SEARS, 1954) and " Wachtel " (RÖBBELEN, 1968) were also taller. It was observed that the monosomics of "Bersée" (LAW and WORLAND, 1972) belonging to groups 1 and 5 and perhaps 3 tended to be taller than the euploid and the other groups to be shorter. This tendency seemed to apply to the monosomics of " Probus ".

For the number of spikelets/spike, most of the monosomics did not differ from the disomics. Three monosomics had a number significantly lower. The other characters, related to yield and fertility, number of grains/spike, grain weight/spike, number of grains/spikelet and thousand kernel weight showed a significant decrease for nearly all monosomics. The reduction of fertility seems to be a rather general phenomenon for lines with a chromosome in a monosomic condition. This decrease of fertility was also found for the monosomics of "Bersée" (LAW and WORLAND, 1972), although not all differences were significant in this case. This reduction of fertility may not be surprising because the loss of a chromosome along with its large number of genes might be expected to have a depressing effect on a generally balanced "fitness" character such as seed fertility. One exception to this appears however to be monosomic 7B. 7B of " Probus " had a number of grains/spikelet even higher than the disomic (significant at the 5 p. cent level.) Monosomic $5B^S$-$7B^S$ of "Bersée" studied by LAW and WORLAND (1972) had the highest fertility of all the monosomics and was close to the "Bersée" value, suggesting that the loss of this chromosome has little influence on fertility. Probus carries two translocations relative to " Chinese Spring", one of which is for chromosomes 5B and 7B, and the other is not yet identified. As in " Bersée" in hybrids with " Chinese Spring ", quadrivalents are formed very frequently.

It is likely therefore that the same translocation is involved and that chromosome 7B of " Probus " should be designated as $5B^S$-$7B^S$ (KLEIJER, unpublished).

JHA *et al.* (1971) found in the 21 monosomic lines of "Chinese Spring" a protein content slightly higher than the disomic control, but the differences were not significant. None of the "Probus" monosomics had a protein content significantly lower than the corresponding disomic. Although protein content has a tendency to increase with decreasing fertility and seed size (JAIN *et al.*, 1976), this was not always the case for "Probus" monosomics. Ten of the 17 monosomics tested did not show a significant difference in protein content. It is possible that genes for protein content are distributed over the genomes with the consequence that the effect of individual chromosomes is rather limited. The sedimentation value of Zeleny is an index of the quality of the protein. Some monosomics gave Zeleny values which were significantly different. All three monosomics, 1B, 1D and 7D, showed a strong reduction so that it may be concluded that particularly these three chromosomes are important for the genetic control of the Zeleny index. Chromosomes belonging to group 1 seem to be important for the genetic control of protein quality (SHEPHERD, 1968).

The method of plant cloning used in this investigation has the great advantage of obtaining many plants without numerous chromosome countings, the latter being rather time-consuming. It is not known whether the effect of cloning on each monosomic and disomic line studied is the same. Plants, which have to be cloned, must be sown early. Consequently, the time of ear emergence is earlier, in our trial about one week. Plant height also seems to be influenced by cloning. The variety "Probus" was about 20 centimeters shorter than normal. Whether this is a general effect and to what extent the other characters are influenced by the cloning procedure is not known, but we think that the differences found are mainly due to gene loci on chromosomes in the monosomic condition.

*Reçu pour publication en août 1977.*

## Acknowledgement

Thanks are due to Dr. C.N. LAW (Cambridge, England) for critically reading the manuscript.

## Résumé

*Analyse de plusieurs caractères quantitatifs de la série monosomique de la variété de Blé tendre " Probus "*

Les plantes de 17 différentes lignées monosomiques de la variété de blé suisse « Probus » ont été autofécondées. Puis, par bouturage, des clones ont été formés à partir de chaque graine semée. Sur ces plantes, cultivées au champ, plusieurs caractères quantitatifs d'intérêt agronomique ont été mesurés : la date d'épiaison, le nombre de talles par plante, la hauteur de la plante, la longueur du col de l'épi, la longueur de l'épi, le nombre d'épillets par épi, le nombre de grains par épi, le poids du grain par épi, le nombre de grains par épillet, le poids de mille grains, la teneur en protéines et la valeur Zeleny. L'effet de la monosomie a pu être mis en évidence sur certains caractères comme la hauteur de la plante. La plupart des monosomiques se sont montrés soit plus longs, soit plus courts que leur disomique correspondant. D'autre part, une réduction presque générale de la fertilité a été observée. L'intérêt de la méthode de clonage par bouture est discuté avec les résultats.

## References


JAIN H. K., SINGHAL N. C., AUSTIN A., 1976. Breeding for higher protein yields in bread wheat: Experimental approach and phenotypic marker. *Z. Pflanzenzüchtg.*, **77**, 100-111.

JHA M. P., KAUL A. K., RAGHAVIAH P., SWAMINATHAN M. S., 1971. Identification of chromosomes carrying factors for seed storage proteins. *Wheat Inf. Serv. Kyoto*, **32**, 9-13.

KUSPIRA J., UNRAU J., 1957. Genetic analyses of certain characters in common wheat using whole chromosome substitution lines. *Can J. Plant Sci.*, **37**, 300-326.

LARSON R. I., 1959. Cytogenetics of solid stem in common wheat. I. Monosomic $F_2$ analysis of the variety S-615. *Can. J. Bot.*, **37**, 135-156.

LAW C. N., 1968. Genetic analysis using inter-varietal chromosome substitutions. *Proc. 3rd Int. Wheat Genet. Symp.*, Canberra, 331-342.

LAW C. N., WORLAND A. J., 1972. Aneuploidy in wheat and its uses in genetic analysis. *Rep. Plant Breed. Inst.*, Cambridge, 25-65.

PERSON C., 1956. Some aspects of monosomic wheat breeding. *Can. J. Bot.*, **34**, 60-70.

RÖBBELEN G., 1968. Desynapsis als Fehlerquelle bei der Aufstellung von Monosomen-Sortimenten des Weizens. *Z. Pflanzenzüchtg.*, **60**, 1-18.

SASAKI M., MORIYASU M., MORRIS R., SCHMIDT J. W., 1968. Chromosomal location of genes for some quantitative characters of wheat using chromosome substitution lines. *Proc. 3rd Int. Wheat Genet. Symp.*, Canberra, 343-349.

SEARS E. R., 1953. Nullisomic analysis in common wheat. *Amer. Nat.*, **87**, 245-252.

SEARS E. R., 1954. The aneuploids of common wheat. *Missouri agric. exp. Stat. Research* Bull. 572, 1-59.

SCHMIDT J. W., MORRIS R., JOHNSON V. A., MATTERN P. J., 1966. Comparison of the chromosome substitution and monosomic methods for wheat quality studies. *Crop Sci.*, **6**, 370-372.

SHEPHERD K. W., 1968. Chromosomal control of endosperm proteins in wheat and rye. *Proc. 3rd Int. Wheat Genet. Symp.*, Canberra, 86-96.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (6), 737-748.

# Étude cytogénétique de $F_1$ et $F_2$ (Triticale hexaploïde × Seigle) : Mise en évidence d'une inhibition du système diploïdisant du Blé tendre

M. BERNARD et Bernadette SAIGNE

avec la collaboration technique de Hélène BONHOMME

*Station d'Amélioration des Plantes,*
*Centre de Recherche de Clermont-Ferrand, I.N.R.A.*
63000 *Clermont-Ferrand*

## Résumé

L'analyse des comportements méiotiques de $F_1$ tétraploïdes entre Triticale hexaploïdes et trois lignées de Seigle révèle l'existence d'un appariement entre chromosomes homéologues des génomes A et B. Il est évident que le système diploïdisant du Blé tendre, constitué essentiellement par le gène « Ph » porté par le chromosome 5B, qui interdit normalement chez cette espèce les appariements entre chromosomes homéologues, est inhibé. En outre, une variation significative pour l'intensité de l'appariement homéologue a été mise en évidence entre les différentes plantes $F_1$. Ces plantes $F_1$, hautement stériles, ont donné quinze plantes $F_2$ viables, dont les nombres de chromosomes varient de 28 à 50. Certaines d'entre elles présentent régulièrement des associations chromosomiques sous forme de trivalent.

L'existence de génotypes de Seigle susceptibles d'agir sur le degré de l'appariement entre chromosomes, et l'hypothèse de leur sélection en fonction du degré d'homozygotie, sont discutées à la lumière de ces résultats.

L'acquisition d'une large variabilité génétique, dont dépendent les progrès réalisés en Amélioration des Plantes, est fonction, d'une part, du nombre de différences alléliques mises en jeu dans un croisement, d'autre part, de l'intensité des phénomènes de recombinaison conduisant à l'apparition de nouvelles structures géniques.

Si, à l'heure actuelle, certaines techniques permettent de réaliser des croisements entre géniteurs très éloignés, on ne sait guère agir sur les processus qui régissent l'intensité de la recombinaison, en particulier chez les Eucaryotes. Faute d'avoir une bonne représentation de l'organisation du chromosome des organismes supérieurs, il apparaît indispensable d'étudier et de comprendre le contrôle génétique de la méiose pour disposer d'un mode d'action sur l'apparition de nombreux recombinants.

Dans le cas particulier du Triticale et de ses relations avec le Blé et le Seigle, un facteur de progrès serait de pouvoir obtenir des recombinaisons entre les chromosomes appartenant aux génomes des deux progéniteurs. Dans quelques cas, de tels phénomènes ont lieu, puisque l'on connaît des génotypes de Blé tendre qui ont incorporé un fragment de chromosome de Seigle (METTIN *et al.*, 1973; ZELLER, 1973), et réciproquement (GUSTAFSON et ZILLINSKY, 1973). Cependant, l'étude de différentes combinaisons hybrides entre Blé et Seigle montre qu'il n'y a généralement pas appariement entre les chromosomes des deux espèces.

Le contrôle génétique de la méiose chez le Blé tendre est maintenant bien connu (RILEY *et al.*, 1973) : le rôle prédominant dans cette espèce polyploïde est joué par le locus « Ph » porté par le bras long du chromosome 5B. Le gène existant normalement à ce locus inhibe l'appariement entre chromosomes homéologues, aussi bien à l'état haploïde (ABD) que diploïde (AA BB DD), ce qui a pour effet le plus évident d'assurer au Blé un comportement méiotique d'espèce diploïde.

Les mécanismes génétiques du contrôle des appariements sont beaucoup moins bien connus chez le Seigle. Ils ont été étudiés par LAMM (1936), REES (1955), REES et THOMPSON (1957), qui ont montré que le déterminisme génétique de la méiose de cette espèce est probablement complexe; en particulier le niveau d'hétérozygotie des génotypes intervient, puisque l'appariement est fortement diminué chez les lignées inbred. Les anomalies constatées au niveau des lignées inbred de Seigle ont été invoquées pour expliquer l'asyndèse plus ou moins grande constatée chez la majorité des génotypes de Triticale, asyndèse imputable, suivant la plupart des auteurs (SHIGENAGA, LARTER et MC GINNIS, 1971; THOMAS et KALTSIKES 1974; LELLEY, 1975), aux chromosomes du génome de Seigle.

En outre, les interactions entre les divers génomes constitutifs du Triticale sont probablement très complexes. Le génome de Blé, à l'état diploïde, réduirait l'importance des appariements au niveau du génome du Seigle : ce dernier n'échappe donc pas aux mécanismes d'inhibition induits par le locus « Ph ». Mais on a également montré (MILLER et RILEY, 1972; LELLEY, 1975-1976) par l'étude de structures génomiques de type : ABDRR, ABDRRR, obtenues par croisement entre Triticale octoploïde et Seigles, diploïdes ou tétraploïdes :

— que la présence du génome Blé (ABD) à 1 dose n'inhibe pas la formation des chiasmas entre les génomes de deux espèces de Seigle;

— que 2 ou 3 exemplaires de génome Seigle (R) favorisent l'appariement homéologue entre chromosomes des génomes constitutifs du Blé. D'après MILLER et RILEY (1972), cette induction est à effet quantitatif : elle est d'autant plus forte que la dose de génome Seigle est élevée. Le gène responsable de cette induction a été localisé (RILEY, CHAPMAN et MILLER, 1973) sur le bras court du chromosome 5R ($5R^S$); quant au bras long du même chromosome ($5R^L$), il porterait un système plutôt analogue au « Ph » de Blé tendre. Mais ce gène ($5R^L$) ne serait pas capable (BIELIG et DRISCOLL, 1970) de remplacer totalement le $5B^L$. En outre, LELLEY (1976) a clairement montré, par l'analyse de structures (ABDR + 1 chr. R), obtenues par croisement entre lignées d'addition (Blé × Seigle) et des Seigles (*Secale cereale* et *S. montanum*), que certaines paires de chromosomes de Seigle favorisent l'induction d'appariements homéologues chez le Blé; cette induction est particulièrement nette dans les combinaisons impliquant *S. montanum*. Mais il a également montré qu'il y avait de grandes différences de comportement entre les différentes plantes $F_1$ de même structure chromosomique, ce qui suggère l'existence d'une variation génétique dans les populations de Seigle qui ont été utilisées dans ces croisements.

Par contre, les résultats sont beaucoup plus contradictoires pour ce qui

concerne les génotypes ABRR, résultant du croisement entre Triticale hexaploïde et Seigle. MILLER et RILEY (1972) ont observé dans une $F_1$ (Triticale hexaploïde × *S. montanum*) un léger appariement entre chromosomes de Blé. Ce résultat n'a pas été observé par LELLEY (1975) sur des $F_1$ (Triticale hexaploïde × *S. cereale*).

Pour notre part, nous nous sommes intéressés aux croisements (Triticale hexaploïde × Seigle), d'abord sous l'angle de la sélection, dans le but de préciser si l'apparition de structures recombinées au niveau du seul génome du Seigle permet des progrès dans l'amélioration du Triticale. Pour cela, nous avons principalement utilisé des lignées inbred de Seigle, donc un matériel présélectionné pour sa tolérance à l'homozygotie. Afin de préciser l'importance des appariements entre les deux génomes R, apportés l'un par le Triticale, l'autre par le Seigle, nous avons étudié les comportements méiotiques d'un certain nombre des $F_1$ obtenues. Le deuxième objectif était d'obtenir par le biais de ce croisement des Triticale tétraploïdes, puisqu'il s'avère qu'il est impossible de les obtenir par croisement direct, et de préciser ensuite leur structure génomique.

## I. — Matériel et méthodes

Nous avons croisé diverses lignées de Triticale hexaploïde (*X Triticosecale* hexaploïde WITTMACK) n° 532, 533, 539, correspondant à des descendances $F_6$ de croisements entre Triticale octoploïdes et Triticale hexaploïdes, avec 3 lignées consanguines de Seigle (*Secale cereale* L.), n° 571, 609, 603, obtenues par BERBIGIER à partir de la variété population « Petkus » par croisements frère × sœur (18 générations). D'autres croisements nous ont permis de vérifier que ces lignées de Triticale n'étaient porteuses d'aucune substitution R/D. L'une des lignées de Seigle (571) a fourni 18 des 21 plantes $F_1$ étudiées en méiose. Huit de ces plantes ont donné seulement 15 descendances $F_2$ viables qui ont également été étudiées.

Les plantes $F_1$ et $F_2$ ont été cultivées en pots. Les étamines prélevées pour les examens des comportements méiotiques ont été fixées dans l'alcool acétique 3 : 1 additionné de perchlorure de fer, et stockées dans l'alcool à 70°. Les comportements méiotiques ont été observés après dissection des étamines dans le carmin acétique ferreux (préparé selon BELLING), et établis en principe sur 50 cellules-mères de pollen (CMP) observées en métaphase I.

## II. — Résultats

### 1. — *Analyse du comportement méiotique des $F_1$*

La structure génomique des plantes $F_1$ (Triticale hexaploïde × Seigle) est du type A B R R (2n = 28), qui correspond à un comportement méiotique standard de $7'' + 14'$. Le comportement observé sur 1 042 CMP est : $7{,}84'' + 12{,}26' + 0{,}022'''$. La figure 1 montre en outre que la variation pour le nombre de chromosomes appariés est très large, puisque le nombre de bivalents varie de 3 à 13 : dans certaines cellules, la quasi totalité des chromosomes est appariée. Il est donc évident qu'il y a association homéologique A/B.

Globalement, l'excès de chromosomes appariés par rapport au comportement méiotique standard est de 0,84 bivalent (1,68 chromosome). Or, le comportement méiotique standard est « optimisé », puisqu'il suppose une syndèse parfaite des chromosomes R, qui n'est pas toujours réalisée, en particulier dans les 150 CMP

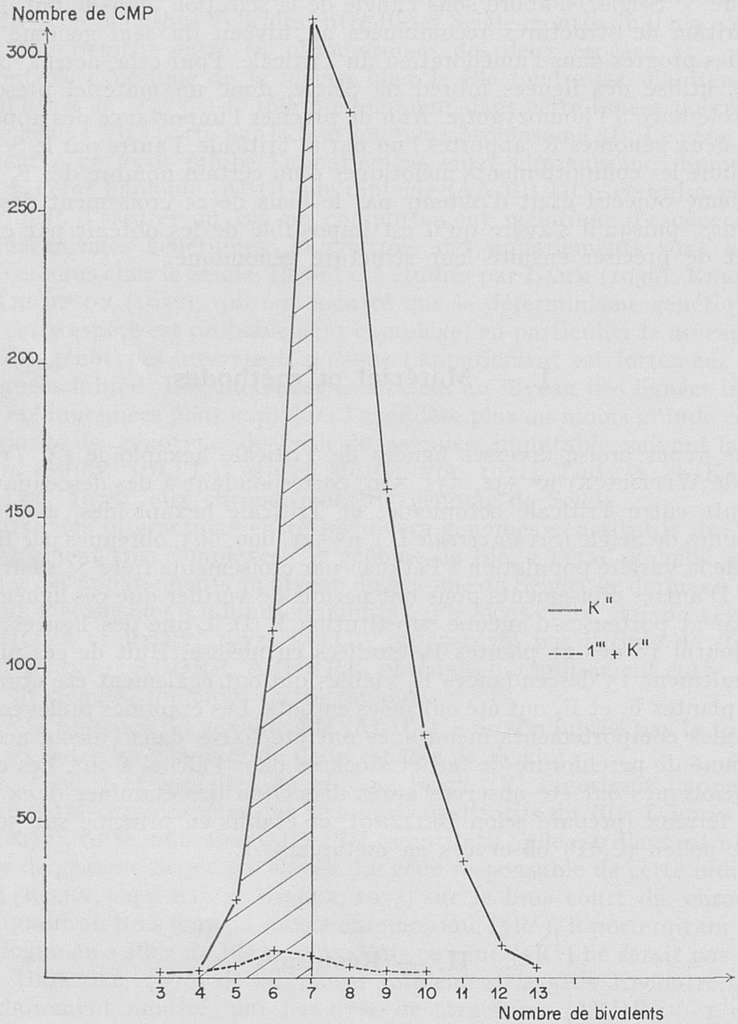



FIG. 1. — *Courbe de répartition des CMP en fonction du nombre de bivalents en* $F_1$

qui présentent 6, 5, 4 ou 3 bivalents. Dans la mesure où l'on ne peut identifier les chromosomes appartenant aux différents génomes par la technique de coloration que nous avons utilisée, certains bivalents sont comptabilisés comme bivalents R/R, alors qu'ils correspondent en fait à des associations homéologues A/B. Cependant, il est commode d'admettre qu'il n'y a pas d'association AB dans toutes les CMP présentant 7″, ou moins de 7″, une dans les CMP présentant 8″, etc...

On arrive à un total de 1 047 bivalents supplémentaires pour 1 019 CMP, soit 1,0275″ supplémentaire par CMP. Le nombre moyen de chromosomes AB impliqués dans des associations homéologues est au moins de 2,055, estimation qui est plus proche de la réalité que le chiffre précédent.

Si l'on raisonne en nombre de CMP présentant une configuration déterminée, on voit que 54 p. cent d'entre elles présentent au moins 1 bivalent supplémentaire, 27 p. cent au moins deux : il en résulte que, théoriquement, plus de la moitié des gamètes seront porteurs d'au moins une recombinaison A/B.

Si l'on admet que la probabilité d'appariement pour un couple quelconque de chromosomes homéologues AB est une constante ($p$), la probabilité de non

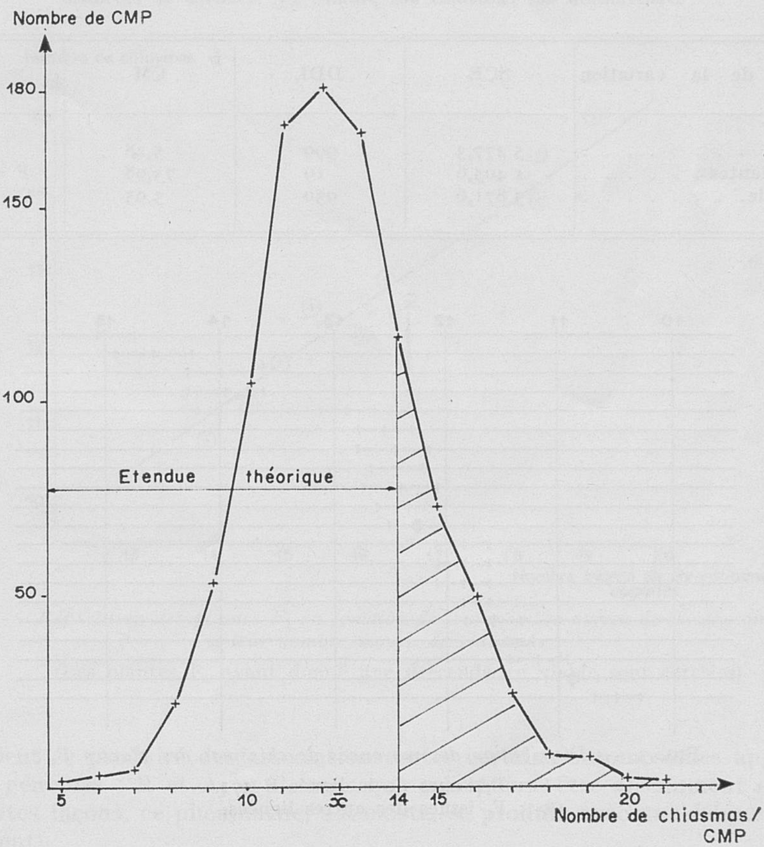



FIG. 2. — *Courbe de distribution des chiasmas en* $F_1$

appariement étant $q = 1 - p$, le nombre de bivalents supplémentaires par CMP est alors donné par le développement de la formule $(p + q)^7$; cette distribution a pour moyenne $7p$ et pour variance $7pq$. Il n'existe pas de valeur $p$ permettant d'ajuster la distribution binomiale théorique et la distribution expérimentale : les fréquences observées des classes présentant 3 bivalents supplémentaires sont plus élevées que les fréquences attendues. Ceci suggère soit un phénomène

de « contagion » de l'appariement, soit l'existence d'une hétérogénéité dans la population de CMP étudiée.

Alors que la courbe de distribution des univalents est fortement dissymétrique, la courbe de distribution des chiasmas (fig. 2) est plus normale. Elle a pour moyenne 12,34, pour écart type 2.28. Elle déborde largement au-delà de la limite maximum théorique de 14 chiasmas (7 bivalents en anneau), tout en donnant elle aussi une sous-estimation de l'importance des chiasmas correspondant effectivement aux associations AB, pour la raison que nous avons invoquée précédemment.

TABLEAU I

*Distribution des chiasmas des plantes $F_1$. Analyse de variance*

| Origine de la variation | SCE | DDL | CM | |
|---|---|---|---|---|
| Totale . . . . . . . . . . | 5 277,3 | 999 | 5,28 | |
| Entre plantes . . . . . . | 1 405,6 | 19 | 73,98 | F = 18,73 |
| Résiduelle. . . . . . . . | 3 871,6 | 930 | 3,95 | |

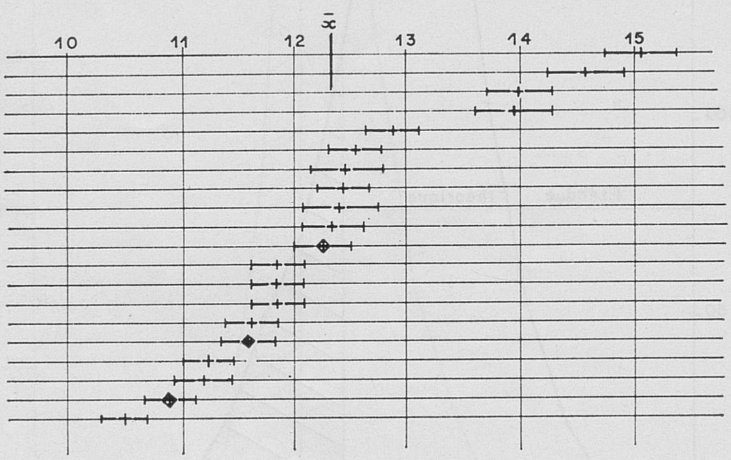



FIG. 3. — *Distribution des moyennes de chiasmas des plantes $F_1$*

+ : $F_1$ issues de la lignée S 571

◇ : $F_1$ issues des autres lignées.

Une analyse de variance (tabl. 1) portant sur 1 000 CMP appartenant à 20 plantes $F_1$ révèle que la population est fortement hétérogène (F = 18,7; HS). Une comparaison des moyennes par le test de BONFERRONI montre qu'il existe un groupe de 4 moyennes qui sont significativement plus élevées que la moyenne générale, et deux moyennes qui sont significativement plus faibles que la moyenne générale (fig. 3). Les 4 plantes à forte syndèse ont pour parent mâle la lignée S 571, pour parent femelle Triticale 2 plantes 532 et 2 plantes 533. Chez les plantes à très faible syndèse, on note cependant l'existence de cellules présentant 8 bi-

valents ou plus : le phénomène d'appariement homéologue, bien que très atténué, existe donc chez ces plantes.

On peut enfin se demander si le nombre de chiasmas par couple de chromosomes appariés est une constante, ou s'il varie en fonction du nombre de couples. La figure 4 montre nettement, outre l'existence de deux populations de plantes, qu'il y a régression linéaire quasi parfaite entre les deux facteurs ($a = 0{,}69$, $r = 0{,}96$; H.S.) : le nombre de chiasmas par chromosome est donc indépendant du nombre de chromosomes associés. La moyenne élevée de chiasmas par CMP observée chez les 4 plantes à forte syndèse est clairement due à un accroissement du nombre de chromosomes appariés, et non à un nombre plus élevé de chiasmas par chromosome associé.

Enfin, la présence de CMP présentant des trivalents (23 sur 1 042) suggère

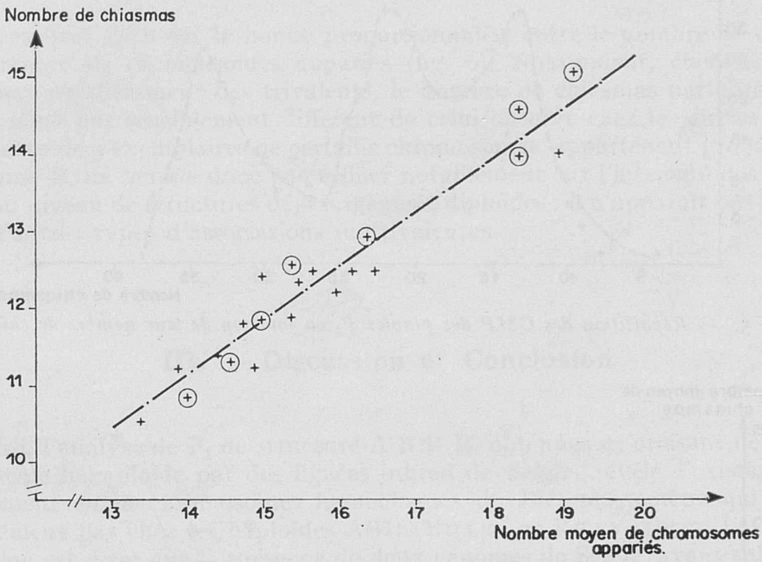



FIG. 4. — *Répartition des plantes $F_1$ en fonction de leur nombre moyen de chromosomes appariés et leur nombre moyen de chiasmas*

(Les plantes $F_1$ ayant donné une descendance viable sont cerclées)

qu'il peut se produire des associations entre certains chromosomes appartenant aux 3 génomes : R et A ou B, sans que cela puisse être absolument démontré. De toutes façons, ce phénomène, s'il existe, se produit avec une fréquence faible (2 p. cent).

2. — *Analyse du comportement méiotique des plantes $F_2$*

Les plantes $F_1$ (Triticale hexaploïde × Seigle) sont susceptibles de fournir diverses formules gamétiques théoriques, dont les plus probables sont : R, AR, BR, X(= A/B) R, ABR. On s'attend donc à des nombres chromosomiques en $F_2$ voisins de 14 ($2x$), 21 ($3x$), 28 ($4x$), 35 ($5x$) et 42 ($6x$) chromosomes, correspondant aux différentes combinaisons zygotiques possibles.

En fait, les nombres de chromosomes des 15 plantes $F_2$ analysées en méiose varient de 28 à 50. Les comportements méiotiques de ces plantes sont très divers, mais d'une façon générale on observe que :

— la courbe de répartition des chiasmas est trimodale (13, 22 et 35 chiasmas / CMP : fig. 5), et son allure générale est très différente de celle observée chez les $F_1$ : elle tend à progresser vers les valeurs élevées par rapport à la courbe précédente;

— Les plantes se répartissent grossièrement en deux groupes :

• un groupe de 10 plantes qui ne présentent en méiose que des bivalents, à côté d'un nombre plus ou moins élevé d'univalents. Le nombre de chromosomes

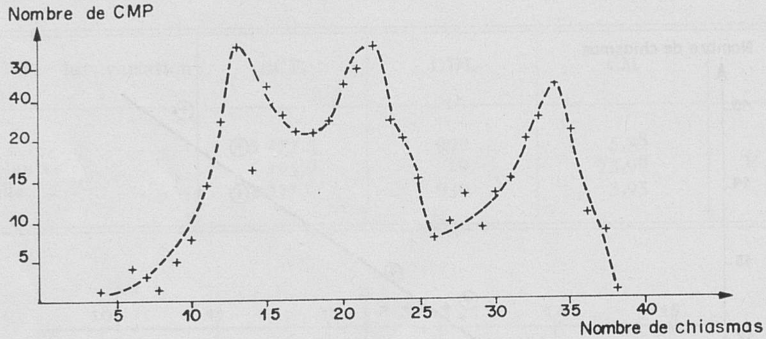



FIG. 5. — *Répartition des CMP des plantes $F_2$ en fonction de leur nombre de chiasmas*

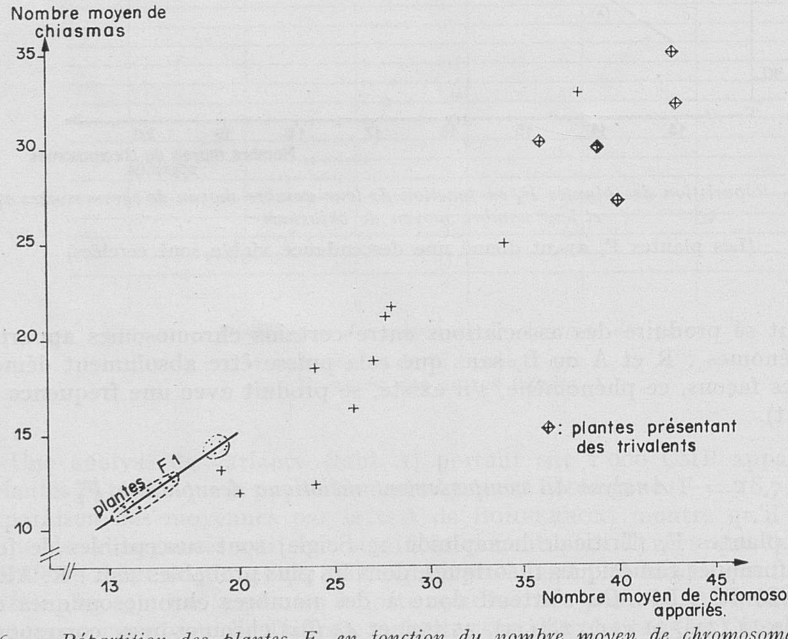



FIG. 6. — *Répartition des plantes $F_2$ en fonction du nombre moyen de chromosomes appariés et du nombre moyen de chiasmas*

de ces plantes ne dépasse pas 40. On peut penser qu'elles réunissent dans leur patrimoine génétique 2 génomes R (7″), tout ou partie d'un génome A ou B — ou mixte (X) à l'état diploïde, et un certain nombre de chromosomes singuliers A, B ou X (de 0 à 16). Le nombre de chromosomes susceptibles de s'apparier varie pour cette catégorie de plantes de 19 à 38;

- un groupe de 5 plantes dont le nombre de chromosomes est supérieur à 45, et qui présentent un nombre plus ou moins élevé de trivalents (de 2 à 7); ce comportement révèle l'existence de formules génomiques heptaploïdes, probablement de type AA BB RRR, plus ou moins imparfaites, puisque ces plantes présentent 4 à 10 chromosomes non appariés. Leur existence implique, au niveau des $F_1$, la formation de structures gamétiques de type A B R R, correspondant vraisemblablement à des gamètes non réduits.

Il convient de noter la bonne proportionnalité entre le nombre de chiasmas et le nombre de chromosomes appariés (fig. 6). Notamment, chez les plantes présentant régulièrement des trivalents, le nombre de chiasmas par chromosome apparié n'est pas sensiblement différent de celui observé chez les autres plantes. La présence de 3 exemplaires de certains chromosomes, appartenant probablement au génome R, ne semble donc pas influer notablement sur l'intensité des appariements au niveau de structures déjà largement diploïdes : il n'apparaît pas en particulier d'autres types d'associations multivalentes.

## III. — Discussion et Conclusion

Ainsi, l'analyse de $F_1$ de structure A B R R, obtenues en croisant des lignées de Triticale hexaploïde par des lignées inbred de Seigle, révèle l'existence d'un appariement entre chromosomes homéologues du Blé, phénomène qui n'existe normalement pas chez les haploïdes ABD (Miller et Riley, 1972). La première conclusion est donc que la présence de deux génomes de Seigle, ayant subi l'un et l'autre des phases répétées de consanguinité, inhibe, au moins partiellement, le système diploïdisant du Blé tendre. Ces résultats sont en accord avec ceux observés par Miller et Riley sur des $F_1$ (Triticale hexaploïde × *Secale montanum* : A B $R^c$ $R^m$), mais ne concordent pas avec ceux observés par Lelley (1975) sur des $F_1$ (Triticale hexaploïde × *S. cereale* : A B $R^c$ $R^c$), puisque cet auteur n'a pas constaté d'appariement homéologue A/B.

Il est remarquable que :

— d'une part, toutes les plantes $F_1$ observées présentent, à des degrés divers, des associations de type A-B;

— d'autre part, il existe des différences significatives, pour l'importance de cet appariement homéologue, entre les diverses plantes $F_1$ qui se répartissent nettement en deux groupes. Ces différences suggèrent évidemment l'existence d'une variation génétique, dont on ne peut dire si elle est due au génome R apporté par le Seigle, ou à celui apporté par le Triticale, ou même si elle résulte d'une interaction des deux. En outre, on ne peut préciser s'il s'agit d'une variation purement allélique, suivant l'hypothèse d'un seul locus, localisé d'après Riley sur le chromosome 5R; ou s'il s'agit d'une variation génétique plus complexe, impliquant plusieurs loci répartis sur des chromosomes différents, comme le suggèrent les résultats de Lelley

à partir de l'observation de $F_1$ entre lignées d'addition Blé × Seigle et *S. cereale* ou *S. montanum*.

D'après les résultats de ces différents auteurs, des appariements homéologues ont été observés au niveau des combinaisons génomiques A B R R ($4x$) ou A B D R R ($5x$) principalement quand *S. montanum*, espèce de Seigle autocompatible, rentrait dans les diverses combinaisons étudiées; par contre, les résultats obtenus avec *S. cereale* semblent moins réguliers, en particulier au niveau des $F_1$ tétraploïdes. Pour notre part, nous montrons que l'utilisation de 3 lignées de *S. cereale* fortement inbred donne naissance à des $F_1$ tétraploïdes où l'appariement entre homéologues est important, ou très important. On peut donc se demander si l'accroissement de l'homozygotie au niveau du génome de Seigle n'est pas lié à la sélection de génotypes promoteurs d'appariement, qui existeraient à des fréquences plus ou moins élevées dans les populations d'origine, en fonction de leur degré de consanguinité ou d'autofertilité (*S. montanum*). De tels génotypes seraient seuls capables d'une gamétogénèse à peu près équilibrée qui, d'après LAMM (1936) et REES (1955), est fortement perturbée par l'augmentation de l'homozygotie; ils seraient également capables d'induire des appariements entre chromosomes homéologues. L'examen des comportements méiotiques de $F_1$ résultant de croisements orthogonaux entre lignées de Triticale, et lignées ou populations de Seigle, doit permettre de préciser l'existence d'une variation génétique au sein du génome de Seigle en fonction de son degré d'homozygotie, pour l'aptitude à induire des appariements homéologues. Il sera également intéressant d'étudier les méioses d'haploïdes de Triticale obtenus par androgénèse *in vitro* (S. BERNARD *et al.*, 1976). Suivant notre hypothèse, l'étude des méioses de ces haploïdes devrait révéler une grande variabilité dans le degré d'appariement homéologue entre les différents génomes constitutifs, en fonction, d'une part, du niveau d'homozygotie des génotypes de Seigle initiaux, d'autre part, de celui des génotypes de Triticale soumis à androgénèse.

Il est à noter, en outre, que la plupart des observations réalisées sur Blé ou sur Triticale, par nous mêmes ou par d'autres auteurs, mettent en évidence une forte asyndèse au niveau des génotypes hétérozygotes, et une régularisation de la méiose dans les structures homozygotes, généralement sélectionnées pour leur fertilité. Ces faits peuvent également suggérer la sélection de génotypes récessifs inducteurs d'appariement, mais on ne peut écarter l'hypothèse d'effets purement « mécaniques » au niveau des chromosomes.

Enfin, on remarque que l'appariement homéologue constaté intéresse essentiellement les génomes A et B du Blé, et que le génome R du Seigle, s'il est impliqué, ne l'est que rarement (faible fréquence de trivalents). A cela, deux raisons sont possibles. La première est que la structure génomique A B R R ne favorise guère l'existence d'appariements RA ou RB; la deuxième est qu'il est probable, comme cela a déjà été remarqué (RILEY et KIMBER, 1966), que les chromosomes du Seigle n'ont guère d'affinités structurales avec ceux du Blé, et qu'en conséquence tout système contrôlant globalement les appariements homéologiques n'a qu'un impact très limité au niveau de leurs relations. Les inhibitions d'appariement entre chromosomes appartenant à des génomes phylétiquement éloignés sont probablement de nature complexe, et impliquent vraisemblablement des systèmes de contrôle beaucoup plus diffus que celui décrit classiquement chez le Blé, systèmes auxquels l'hétérochromatine (THOMAS et KALTSIKES, 1974) n'est sans doute pas étrangère.

*Reçu pour publication en avril 1977.*

## Summary

*Cytological study of $F_1$ and $F_2$ (hexaploid triticale × rye): evidence for an inhibition of the diploidizing system in wheat*

In this paper the results of cytological observations on $F_1$ and $F_2$ generations of crosses between hexaploid Triticale and Rye are reported. A total of 21 $F_1$ plants originating from crosses between three $F_6$ triticale lines and three rye inbred lines were studied. One of the rye lines alone gave 18 of these 21 plants. Only 8 of these $F_1$ plants gave $F_2$ viable progenies — a total of 15 $F_2$ plants —.

In the $F_1$ generation (ABRR), 12,26 univalents, 7,84 bivalents and 0,022 trivalents were observed on average, when the theoretical meiotic behaviour is 7 bivalents and 14 univalents, clearly indicating a pairing between some homeologous A and B chromosomes. However, the importance of this pairing is probably under estimated: all the bivalents up to 7 are considered as homologous associations R/R, because the staining technique did not allow the identification of the different genomes. A variance analysis of the chiasmata distribution indicates an heterogeneity among the $F_1$ plant population, 4 among them showing an homeologous association significantly higher than the others.

In the $F_2$ generation, the chromosome numbers are very variable: from 27 up to 50. Plants can be classified into two groups: one group with bivalents only at meiosis, in which the chromosome numbers are below 40, and another group where trivalents (from two to seven)were observed, with a chromosome number above 45. The chiasmata distribution appears to be trimodal, the first mode being at the same value than that of the $F_1$ population. Therefore, it should be possible to obtain different genomic structures in the following generations, but no alloplasmatic rye except by back-cross.

These results are in agreement with those obtained by MILLER and RILEY (1972) on $F_1$ (hexaploid triticale × *Secale montanum*), but not with those of LELLEY (1976) on crosses (hexaploid triticale × *Secale cereale*). It seems to us that it is because we used inbred lines of rye that we regularly observed homelegous AB associations in $F_1$ (ABRR) plants.

At the light of our results and those from LELLEY, it could be concluded that the control of meiotic pairing in rye is complex; clearly, this control depends on the level of homozygosity of the populations. It is likely that inbreeding will favour the selection of genotypes which are promotors of pairing, and which are able to overcome the 5B system of wheat. It will be interesting to investigate the relations between this system of control and the existence of large heterochromatic blocks in the rye genome.


## Références bibliographiques


BERNARD S., PICARD E. et DE BUYSER J., 1976. Obtention de plantes haploïdes de triticale hexaploïdes (X *Triticosecale* Wittmack) par culture *in vitro* d'anthères. *C. R. Acad. Sci., Ser. D, Paris*, **283**, 235-238.

BIELIG L. et DRISCOLL C. J., 1970. Substitution of rye chromosome $5R^2$ for chromosome 5B of wheat and to effect on chromosome pairing. *Genetics*, **65**, 241-247.

GUSTAFSON P. J. and ZILLINSKY F. J., 1973. Identification of D genome chromosomes from hexaploid wheat in a 42 chromosome triticale. *Proc. 4th Wheat Genet. Symp.*, University of Columbia, Missouri, 225-231.

HSAM S. L. K. and LARTER E. N., 1974. Effect of breeding on triticale selected for two levels of fertility and chiasma frequency. *Crop Sci.* **14**, 213-215.

LAMM R., 1936-1937. Cytological studies on inbred rye. *Hereditas*, **22**, 217-240.

LELLEY T., 1975. Genetic control of pairing of Rye chromosomes in Triticale. *Z. Pflanzenzüchtung* **75**, 24-29.

LELLEY T., 1976. Effect of nulli-tetrasomic combinations of wheat chromosomes on the pairing of rye chromosomes in triticale. *Z. Pflanzenzüchtung*, **77**, 89-99.

LELLEY T., 1976. Induction of homoeologous pairing in Wheat by genes of Rye suppressing chromosome 5B effect. *Can. J. Genet. Cytol.*, **18**, 485-489.

LELLEY T., 1976. The effect of supernumerary chromosomes of rye on homoeologous pairing in hexaploid wheat. *Z. Pflanzenzüchtung*, **77**, 281-285.

METTIN D., BLUTHNER W. D. and SCHLEGEL G., 1973. Additional evidence on spontaneous 1B/1R wheat-rye substitutions and translocations. *Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp.*, University of Columbia, Missouri, 179-184.

MILLER T.E. and RILEY R., 1972. Meiotic chromosome pairing in wheat rye combinations. *Genét. Ibér.*, **24**, 241-250.

REES H., 1975. Genotypic control of chromosome behaviour in Rye. I. Inbred lines. *Heredity*, **9**, 93-116.

REES H. et THOMPSON J. B., 1956. Genotypic control of chromosome behaviour in Rye. III chiasma frequency in homozygotes and heterozygotes. *Heredity*, **10**, 409-424.

RILEY R., CHAPMAN V. et MILLER T. E., 1973. The determination of meiotic chromosome pairing. *Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp.* University of Columbia, Missouri, 731-738.

SHIGENAGA S., LARTER E. N. and MC GINNIS R. C., 1971. Identification of chromosomes contributing to aneuploidy in hexaploid Triticale, cultivar « Rosner ». *Canad. J. Genet. Cytol.*, **13**, 592-596.

THOMAS J. B. and KALTSIKES P. J., 1974. A possible effect of heterochromatine on chromosome pairing. *Proc. Nat. Acad. Sci.* U.S.A., **71**, 2 787-2 790.

ZELLER F. J., 1973. 1B/1R wheat-rye chromosome substitutions and translocations. *Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp.*, University of Columbia, Missouri, 179-184.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (6), 749-751.

## Note

# Mutation induisant une adhérence des cotylédons de la graine chez le Pêcher

R. MONET et Y. BASTARD

*Station d'Arboriculture fruitière,*
*Centre de Recherches de Bordeaux, I.N.R.A.,*
*Pont-de-la-Maye, 33140 Villenave-d'Ornon*

## Origine du mutant

Afin d'étudier le linkage éventuel entre les loci responsables des caractères nectarine et pavie, nous avions pratiqué en 1967 des hybridations entre le pavie « Vivian » et la nectarine « Nectared 6 », puis autofécondé certains de ces hybrides. Le phénotype nouveau s'est manifesté sur les graines obtenues par l'autofécondation de l'un d'entre eux.

## Description du caractère

Lorsqu'on retire les téguments des graines présentant l'anomalie. on constate que les cotylédons de l'embryon adhérent par leur bord latéral (fig. 1), seule la partie terminale des cotylédons est libre.

Une coupe transversale de la graine (fig. 2) montre qu'il y a continuité et homogénéité des tissus au niveau de la zone d'adhérence (il n'y a pas de ligne de suture).

Cette anomalie des cotylédons a des incidences sur le développement de la plantule qui se fait alors selon deux modalités :

— La gemmule s'allonge dans la gaine que constituent les deux cotylédons soudés, mais les compressions qu'elle va subir au fur et à mesure qu'elle grossit entraînent plus ou moins tardivement sa mort.

— La gemmule fait éclater les tissus situés à la base des cotylédons, ces derniers sont rejetés latéralement par rapport à l'axe de germination de la graine. Le développement de la plantule se fait alors sans difficultés.

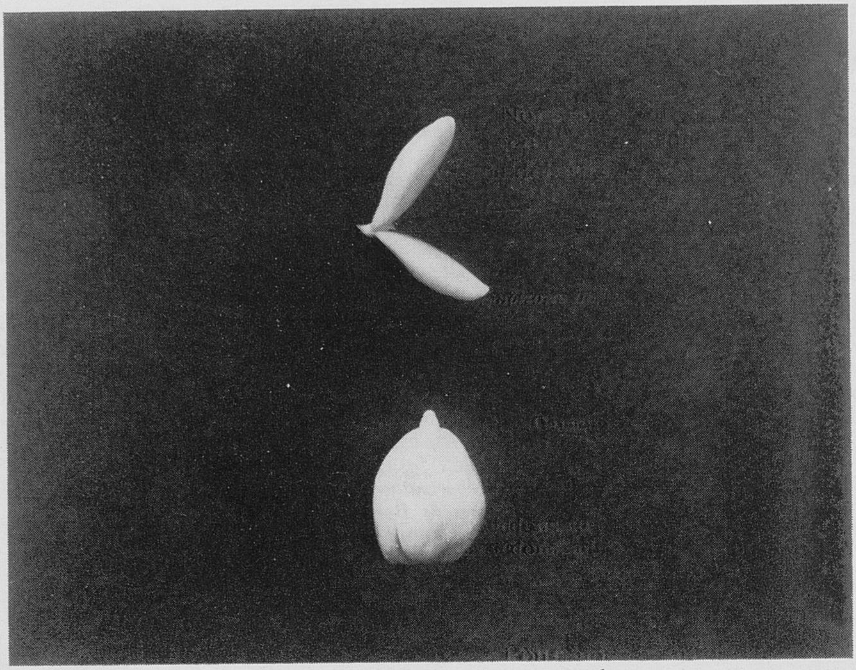


FIG. 1. — En haut : *embryon normal*,
En bas : *embryon à cotylédons adhérents. Les deux embryons sont au même stade de la germination*

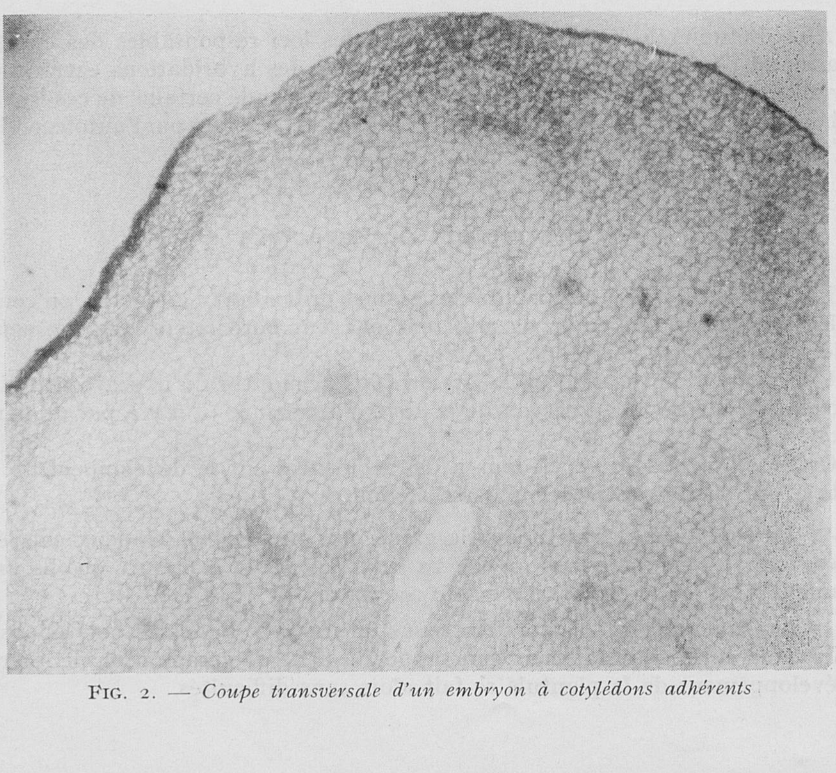


FIG. 2. — *Coupe transversale d'un embryon à cotylédons adhérents*

## Déterminisme génétique

Nous avons autofécondé l'hybride donnant les graines à cotylédons adhérents en 1970 et 1971. Nous avons obtenu une disjonction de type 3-1, caractéristique d'un déterminisme monogénique.

TABLEAU I

*Disjonctions observées au cours des années 1970 et 1971 par autofécondation de l'hybride hétérozygote pour le caractère « cotylédons adhérents »*

| Caractères | Années | | Total | Disjonction théorique |
|---|---|---|---|---|
| | 1970 | 1971 | | |
| Cotylédons normaux . . . | 70 | 122 | 192 | 3 — 1 |
| Cotylédons adhérents . . | 24 | 40 | 64 | |

Pour nous assurer que ce caractère est bien héréditaire, nous avons élevé quelques arbres à partir de graines portant l'anomalie. Leur autofécondation, réalisée en 1976, a donné des graines ayant toutes les cotylédons adhérents.

Il faut noter enfin que, n'étant pas présent chez les parents de l'hybride ni chez les autres hybrides du croisement, le caractère résulte vraisemblablement d'une mutation spontanée qui se serait produite chez l'un des gamètes constitutifs de l'hybride.

## Conclusion

L'hypothèse d'un caractère héréditaire récessif à déterminisme monogénique nous paraît compatible avec l'ensemble des faits que nous venons de rapporter. Nous proposons les symboles « C-c » (lettre initiale de cotylédon) pour désigner les formes normales et mutantes du gène concerné par cette mutation.

*Reçu pour publication en septembre 1977.*


## Summary

*A new mutation inducing cotyledon adherency on peach seeds*

The new phenotype has been observed on seeds obtained by self pollination of one hybrid between "Vivian" and "Nectared 6". The cotyledons of the seeds are adherent on their lateral side, this anomaly makes the germination difficult.

The character is recessive and governed by one gene. We suggest the genetics symbols " C-c " for designate this new mutation.

*Ann. Amélior. Plantes*, 1977, **27** (6), 753-766.

# Hérédité et caractéristiques des sources de résistance à *Helminthosporium maydis* race T, obtenues par mutagenèse chez des maïs à cytoplasme mâle stérile Texas [1]

R. CASSINI, A. CORNU*, A. BERVILLÉ**,
Élisabeth VUILLAUME*, et A. PANOUILLÉ***
avec la collaboration technique de Renée CASSINI, Annie CAUDAL,
D. GUÉRIN et Mireille GRENÈCHE

*Station de Pathologie végétale, I.N.R.A. 78000 Versailles*
* *Station d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A. BV 1540, 21000 Dijon*
** *Laboratoire d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A., Université de Paris Sud, Bât. 360, 91405 Orsay*
*** *Station expérimentale du Maïs, I.N.R.A., 40590 Saint-Martin-de-Hinx.*

## Résumé

Des traitements mutagènes appliqués aux graines de la lignée F7T, porteuse du facteur cytoplasmique Texas de stérilité mâle, ont induit l'apparition de plantes résistantes à *Helminthosporium maydis*, race T. Le criblage des plantes résistantes en génération $M_3$, basé sur l'emploi d'un filtrat de culture du champignon, ou l'inoculation d'un broyat de cette culture, a permis l'isolement de six familles totalement résistantes dans les conditions de culture au champ. Les types de résistance obtenus, ségrégeant jusqu'à la génération $M_5$, ne sont transmissibles que par voie maternelle : une liaison étroite est constatée entre fertilité mâle et résistance à *H. maydis* race T; cependant, des types de stérilité mâle différents du type Texas originel apparaissent dans les familles résistantes. La localisation cytoplasmique des événements génétiques induits, ainsi que le mode d'action éventuel des agents mutagènes employés dans cette expérience sont discutés.

## Introduction

Signalée à plusieurs reprises aux Philippines (Mercado et Lantican, 1961; Villareal et Lantican, 1965), la sensibilité du Maïs à cytoplasme mâle stérile Texas CmsT à l'*Helminthosporium maydis* n'a été révélée que par la grave épidémie qui s'est développée aux États-Unis en 1970.

[1] Ce travail a bénéficié de l'aide financière du Département de Pathologie Végétale A.T.P., I.N.R.A. 4069 et 4096 et de l'Office National Interprofessionnel des Céréales, Conventions ONIC, I.N.R.A. 65-1005 et ONIC-Orsay 78-28.

La mise en évidence de la race T (SMITH *et al.*, 1970), son agressivité particulière vis-à-vis des plantes CmsT et sa responsabilité dans le développement de l'épidémie, ont entraîné l'abandon de la stérilité mâle Texas pour la production des semences, d'abord aux États-Unis (ULLSTRUP, 1970) puis en France (CASSINI, 1971).

Le retour à la castration manuelle ou mécanique a permis de résoudre rapidement le problème pratique, mais la spécificité d'un agent pathogène, liée à la nature cytoplasmique de l'hôte, a initié de très nombreux programmes de recherches dans le monde entier.

Sur le plan pratique, d'autres sources de stérilité mâle cytoplasmiques ou géniques ont été recherchées, mais jusqu'ici, aucune n'offre les garanties de simplicité et de stabilité de la source Texas.

Sur un plan plus théorique, les recherches concernent notamment la spécificité de la relation hôte-parasite et la liaison apparente entre stérilité mâle et sensibilité.

Les tous premiers stades de l'infection, germination des spores et pénétration ne sont pas fondamentalement différents chez les plantes sensibles (CmsT) et chez les plantes résistantes à cytoplasme normal (N). Toutefois, des réactions différentielles s'installent 6 heures après l'infection chez les plantes CmsT inoculées avec la race T (WHITE *et al.*, 1973), alors qu'après 12 heures, la croissance des hyphes mycéliennes est stoppée chez les plantes N (CONTRERAS et BOOTHROYD, 1975). La taille des lésions et l'intensité de la sporulation sont beaucoup plus importantes sur les plantes CmsT (HOOKER *et al.*, 1970).

La spécificité de *Hm.T.* pour le cytoplasme Texas a été plus particulièrement étudiée par l'intermédiaire de la toxine produite par le champignon. Sa constitution chimique n'a pas encore été déterminée avec certitude (LIM et HOOKER, 1972; KARR *et al.*, 1974, 1975; BERVILLÉ *et al.*, 1977) mais le filtrat de culture brut ou partiellement purifié, donne sensiblement les mêmes réactions que le champignon lui-même et peut, de ce fait, être utilisé dans l'étude des réactions des plantes, des cultures de tissus, des protoplastes ou des mitochondries isolées.

MILLER et KOEPPE (1971) ont montré que l'oxydation du malate du succinate ou de l'alpha cétoglutarate par des mitochondries extraites de germes CmsT était inhibée en présence du filtrat de culture produit par la race T, alors que l'oxydation du NADH était stimulée. Parallèlement, on note le gonflement des mitochondries, l'inhibition de la phosphorylation oxydative (GENGENBACH *et al.*, 1973; BEDNARSKI *et al.*, 1977) et une réduction de la consommation du phosphore (ARNTZEN *et al.*, 1973). L'absence de réaction à la toxine des mitochondries issues de germes à cytoplasme N indique que les mitochondries sont impliquées dans le mécanisme qui conduit à la sensibilité des plantes CmsT, sans que celles-ci représentent pour autant le seul site d'activité de la toxine.

La notion de spécificité mérite cependant d'être modulée en fonction des interactions nucléo-cytoplasmiques; si les cytoplasmes mâles stériles autres que ceux du groupe Texas tels que C, S, El Salvador... sont résistants ou peu sensibles à *Hm.T.* (SMITH *et al.*, 1971; HILTY et JOSEPHSON, 1971; WHEELER *et al.*, 1972), certains génotypes peuvent modifier la sensibilité du cytoplasme Texas ou la résistance des plantes à cytoplasme normal (GRACEN *et al.*, 1974; JOHNSON, 1976). En outre, les allèles restaurateurs $Rf_1$ et $Rf_2$ qui restaurent la fertilité des plantes CmsT, modifient les réactions de sensibilité au niveau des symptômes du champignon sur feuille (LIM, 1975; SCOTT et FUTRELL, 1975), mais également les réactions des plantes, des racines et des mitochondries à la toxine (WATRUD *et al.*, 1975).

La possibilité d'utiliser une toxine ayant des effets bien caractérisés au niveau tissulaire et au niveau cellulaire a permis d'envisager la recherche de types résis-

tants parmi les plantes CmsT (CASSINI *et al.*, 1975). Deux voies de recherches ont été explorées :

— l'une utilisant la culture *in vitro* de cals de maïs (GREEN *et al.*, 1974) en présence de toxine, a abouti à l'obtention de cals résistants (GENGENBACH et GREEN, 1975), puis à la régénération de plantes entières résistantes et à l'étude de leur descendance (GENGENBACH *et al.*, 1977);

— l'autre, utilisant la mutagénèse *in vivo* sur des semences à cytoplasme Texas et le tri des plantes résistantes dans les descendances des plantes issues de semences traitées, a abouti à l'obtention de plantes résistantes (CORNU *et al.*, 1977; CASSINI *et al.*, 1977).

L'étude et les caractéristiques héréditaires des sources de résistance révélées par les traitements mutagènes sont présentées et discutées en regard de résultats similaires obtenus *in vitro*.

## Matériel et méthodes

### 1. — *Matériel végétal utilisé*

Nous avons utilisé comme matériel de base, la lignée française F7, qui entre dans la composition de certains hybrides du groupe de maturité (F.A.O-200) et qu'il était possible d'obtenir en assez grande quantité sous sa forme « Texas ». La lignée F71, de précocité comparable, a été choisie comme lignée restauratrice pour obtenir des plantes hybrides autofertiles.

### 2. — *Traitements mutagènes*

Deux sortes de traitements mutagènes ont été effectués sur des lots de semences de la lignée F7T :

a) *Traitement par le M.S.E.* (*methyl sulfonate d'éthyle*)

Les semences sont traitées par trempage pendant 16 h à 24 °C dans une solution aqueuse de M.S.E., dosée à 2,5 g/l. Les graines sont ensuite rincées et essorées avant d'être semées directement en pleine terre.

b) *Irradiation aux rayons* $\gamma$

On a utilisé une source $^{60}Co$, de 1 500 curies. Les graines sèches ont été exposées pendant 2 h 30, de manière à recevoir une dose totale de 15 kR.

### 3. — *Utilisation du matériel traité*

Les plantes obtenues à partir des semences traitées aux agents mutagènes ont été pollinisées par la lignée F71 qui n'avait subi aucun traitement.

On appelle $M_1$ les plantes F7T issues des graines traitées, $M_2$ les plantes hybrides (F7T × F71) et $M_3$ les plantes provenant de l'autofécondation des plantes $M_2$.

La génération $M_4$ a été obtenue, soit par autofécondation des plantes $M_3$

mâle-fertiles, soit par pollinisation par F7N (lignée F7 sur cytoplasme normal) des plantes $M_3$ mâle-stériles.

Les plantes $M_5$ ont été obtenues de la même manière, mais on a, en plus procédé à certains « test-crosses » sur la lignée F7T à partir de plantes $M_4$ mâle-fertiles.

Chaque fois que cela a été possible, on a semé 10 graines $M_2$ par plante $M_1$, obtenant ainsi un nombre de plantes $M_2$ variant de 0 à 10 par plantes $M_1$ d'origine. La viabilité des grains de pollen a été contrôlée sous microscope après dilacération des anthères et coloration par le liquide d'ALEXANDER (1969).

## 4. — *Méthodes de criblage du matériel résistant*

Plusieurs méthodes utilisant la spécificité du champignon ou du filtrat de culture ont été envisagées.

Dans un premier temps, on a utilisé sur des semences $M_3$ les tests d'inhibition des racines en boîte de Petri (HOOKER *et al.*, 1970 loc. cit.) (test n° 1). Les racines de plantes sensibles déposées sur du papier filtre imbibé de filtrat de culture voient leur croissance réduite ou stoppée alors que les racines des plantes résistantes poursuivent leur croissance. Les germinations de plantes résistantes sont récupérées, rincées et repiquées.

La résistance des plantes obtenues a été vérifiée en prélevant des fragments de feuilles qui ont été maintenus en survie sur solution de benzimidazole et inoculés par le champignon (test n° 2).

Par la suite, et pour augmenter les possibilités de tri, nous avons pulvérisé, soit le filtrat de culture, soit un broyat de mycélium, sur de jeunes plantes au stade 3 feuilles maintenues à 25-27 °C et à humidité voisine de la saturation pendant 4 jours (test n° 3). Les plantes ayant survécu à ce traitement sont à l'origine de la plupart des familles étudiées.

La résistance de ces plantes a été vérifiée en cours de végétation en procédant à une scarification des feuilles permettant l'inoculation d'une microgoutte de filtrat de culture (test n° 4). Les plantes résistantes ne présentent aucune réaction alors que chez les plantes sensibles, une lésion caractéristique se développe en 4 jours sous forme d'une bande de la largeur de la scarification qui intéresse la partie distale de la feuille. Ce test a été utilisé notamment pour la génération $M_4$ produite en serre.

Enfin, les plantes de la génération $M_5$ ont été soumises à l'épreuve culturale en plein champ. Ces plantes ont été cultivées dans une zone où la maladie trouve habituellement les conditions nécessaires à son développement épidémique, et inoculées individuellement au stade 5-6 feuilles par dépôt dans le cornet de 3 ml d'un broyat de culture du champignon obtenu en fermenteur (test n° 5).

## 5. — *Extraction et étude des mitochondries*

a) *Obtention des germes*

Pour chaque lot, 50 graines stérilisées par 10 mn de trempage dans l'hypochlorite de soude à 6° chlorométriques et rincées trois fois, sont disposées sur du papier filtre imbibé d'une solution de Ca $Cl_2$ à $10^{-4}$ M (200 ml pour 9 couches de papier en bac de 0,26 × 0,45 m) puis placées à l'obscurité à 24 °C pendant 7 jours.

b) *Extraction des mitochondries*

12 g de l'ensemble coléoptile + mésocotyle sont rapidement recueillis et refroidis dans la glace. La totalité des opérations qui suivent se déroule dans la glace. Les germes sont broyés dans un mortier avec du sable et 10 ml de milieu de broyage [1] auxquels on ajoute ensuite 70 ml du même milieu.

Le broyat obtenu est filtré sur deux couches de toile à blutter de maille 48 μ. Le filtrat est réparti entre deux tubes de centrifugation de 50 ml adaptés au rotor SS-34 d'une centrifugeuse SORVALL RC-2B. La centrifugation est de 15s à 9 100 R.P.M. Le surnageant est récupéré dans deux nouveaux tubes, puis centrifugé. 2 mm à 18 000 R.P.M. Le nouveau surnageant est aspiré sous vide et les 2 fractions contenant les mitochondries sont rassemblées dans 1 ml de « milieu culot » [2]

c) *Étude des mitochondries*

Elle est réalisée à l'oxygraphe : une cellule thermostatée à 27 °C contient 2,8 ml de « milieu électrode » [3] bien aéré. 200 μl de la suspension mitochondriale sont ajoutés (volume final 3 ml). La cellule est fermée au moyen de la sonde de dosage de l'oxygène. Une fois l'équilibre thermique atteint (2 mn), l'enregistrement de la consommation d'oxygène débute.

d) *Mesures de l'activité de la toxine*

Lorsque les mitochondries oxydent le malate (30 mM), la toxine en solution méthanolique est incubée 2 mn avec les mitochondries pendant l'équilibre thermique. Lorsque les mitochondries oxydent le NADH (1,5 mM) les toxines sont injectées dans la cellule 2 mn après le substrat.

Seuls sont rapportés ici les résultats de l'oxydation du NADH. Le coefficient de stimulation est déterminé par le rapport : intensité de consommation d'oxygène en présence de NADH + toxine, sur intensité de consommation d'oxygène en présence de NADH seul.

## Résultats

### 1. — *Les effets des traitements mutagènes*

Les traitements mutagènes effectués ont provoqué chez les plantes $M_1$ une stérilité femelle partielle ou totale, de telle sorte que, après pollinisation par la lignée F71, seulement 65 p. 100 des plantes (dans le cas de l'irradiation $\gamma$) et 73 p. 100 (dans le cas du traitement chimique) ont fourni une descendance suffisante pour pouvoir être analysée (voir tabl. 1).

L'observation des plantules $M_3$ en présence de filtrat de culture ou d'une contamination par le champignon lui-même (tests n° 1 et 2) a permis de déceler rapi-

(1) « *Milieu broyage* »: saccharose 0,4 M; $Po_4H_2$ K 50 mM,
acide éthylène glycol — bis (β amino éthyléther) NN′,
tétraacétique (EGTA) 1 mM, Tris (hydroxyméthyl),
amino méthane (TRIS) 50 ml., pH 7,6 avec TRIS M,
sérum albumine bovine (BSA) 1 mg/ml.

(2) « *Milieu culot* »: saccharose 0,2 M, TES acides N-tris (hydroxyméthyl) méthyl-2-amino éthane sulfonique. 10 mM pH 7,4 avec KOH; BSA 1 mg/ml.

(3) « *Milieu électrode* »: mannitol 0,3 M, KCl 10 mM, Mg $Cl_2$ 5 mM TRIS HCl pH 7,2 10 mM, $KH_2$ $Po_4$ pH 7,2 10 mM, BSA 1 mg/ml.

dement la présence de types résistants. Le traitement M.S.E. est apparu à cet égard extrêmement efficace puisqu'en première analyse, 42 cas de résistance sont ainsi apparus dans ces descendances, soit dans 6,7 p. 100 des familles testées (CORNU *et al.*, 1977). Dans tous les cas analysés, les descendances comportant des plantules résistantes étaient en ségrégation (résistants/sensibles), le taux d'individus résistants variant de 10 à 90 p. 100. Il faut cependant remarquer que certaines descendances $M_3$, reprises ultérieurement et analysées au moyen du test n° 4 (voir Matériel et Méthodes) se sont avérées homogènes résistantes. Le traitement $\gamma$ n'a fourni qu'une seule famille de résistants; mais les trois descendances $M_3$ obtenues dans cette famille n'ont manifesté aucune ségrégation : elles sont entièrement résistantes, contrairement à ce qui avait été observé pour les familles résistantes issues du traitement M.S.E.

TABLEAU I

| Traitement mutagène | Génération $M_1$ | | Génération $M_2$ | Générations $M_3$ et $M_4$ | Génération $M_5$ |
|---|---|---|---|---|---|
| | Nombre de $M_1$ plantées | Nombre de $M_1$ utilisées (1) | Nombre de plantes $M_2$ autofécondées (2) | Nombre de familles ayant produit des types résistants (3) | Nombre de familles résistantes confirmées par test au champ (4) |
| Irradiation $\gamma$. . . . | 1 035 | 670 | 2 330 | 1 | 1 |
| M.S.E. . . . . . . . | 946 | 692 | 2 167 | 14 | 5 |
| Total . . . . . | 1 981 | 1 362 | 4 497 | 15 | 6 |

(1) Plantes $M_1$ ayant produit plus de 10 graines $M_2$.
(2) Il était prévu d'autoféconder 5 plantes $M_2$ issues de chaque plante-mère $M_1$. Pour des raisons diverses (mauvaise germination des semences, ou stérilité des plantes $M_2$), on n'a pu réaliser qu'une moyenne de 3 à 4 autofécondations par famille.
(3) On appelle famille toute la descendance d'une plante $M_1$ déterminée. On n'a tenu compte ici que des familles ayant produit des types résistants, détectés en $M_3$ et confirmés par les tests employés sur leurs descendants $M_4$.
(4) Familles ayant manifesté une résistante totale, au moins égale à celle des témoins à cytoplasme N, dans des conditions de contamination généralisée d'*Helminthosporium maydis*, race T, au champ.

Notons, par ailleurs, que l'efficacité comparée des deux traitements dans la production de résistants, a quelque rapport avec leur activité mutagène, puisque le taux de mutants chlorophylliens, obtenus en $M_3$, est d'environ 70 p. 100 [1] pour le traitement M.S.E. alors qu'il est à peu près 10 fois moindre à la suite des traitements $\gamma$.

## 2. — *Les résistances*

Les résistances obtenues n'ont pas toutes été confirmées par les tests ultérieurs (voir tabl. 1) soit que les premiers tests n'aient pas été assez sévères, soit que ces résistances aient été perdues au cours des générations. C'est finalement 15 familles,

(1) Le taux est égal au pourcentage des descendances $M_3$ comportant des mutants chlorophylliens par rapport au nombre total de descendances $M_3$ analysées.

parvenues en $M_5$, qui ont subi l'épreuve des conditions de culture en milieu contaminé. Pour six d'entre elles (dont la famille issue du traitement $\gamma$), le caractère de résistance au champignon s'est parfaitement confirmé (tabl. 1), sans qu'il ait été possible de déceler des ségrégations à l'intérieur de ces familles.

### 3. — *Phénotypes obtenus*

Le comportement des descendances soumises à des contaminations massives et placées dans des conditions de développement épidémique de la maladie permet d'identifier cinq catégories phénotypiques :

— des phénotypes sensibles identiques au témoin F7T,
— des phénotypes sensibles, mais moins sensibles que F7T,
— des phénotypes « intermédiaires » présentant des symptômes importants, sans toutefois entraîner le dessèchement précoce des plantes,
— des phénotypes résistants, sensiblement équivalents au témoin F7N,
— des phénotypes résistants, manifestement plus résistants que F7N ou que divers hybrides à cytoplasme normal.

L'étude des différents types de résistance est en cours; elle concerne la germination et la pénétration du champignon d'une part, la réaction à la toxine et la caractérisation des lésions d'autre part. Parmi les plantes présentant un phénotype résistant en culture, certaines descendances donnent des lésions typiquement résistantes à la toxine, d'autres des lésions de type intermédiaire.

### 4. — *Mitochondries des plantes résistantes*

Le tableau 2 rassemble les résultats obtenus pour 4 familles de la génération $M_4$ en présence de la fraction toxique 1675. (La fraction 1675 est une fraction active issue du filtrat de culture d'*Hm.T* obtenue par B. Poiret et G. Aranda.) Les mesures ont été réalisées comparativement aux témoins F7T et F7N et ont porté sur la stimulation de l'oxydation du NADH, sur la diminution du coefficient de contrôle respiratoire et sur la perte de la capacité de phosphorylation.

Pour les familles 170-5-3 ⊕ 3 et 170-3-3-3 ⊕, l'oxydation du NADH n'est que très légèrement stimulée par la toxine, la stimulation est plus forte pour la famille 170-3-3-8, mais elle reste nettement inférieure à celle obtenue pour le témoin sensible F7T. Les mitochondries des deux premières familles nommées conservent une capacité de phosphorylation et un contrôle respiratoire : on peut les considérer comme de sensibilité intermédiaire. En revanche, les mitochondries de la 3e famille n'ont plus de contrôle respiratoire, et elles doivent être considérées comme sensibles bien que cette sensibilité ne soit pas aussi marquée que celle du Témoin F7T.

Les mitochondries de la famille 511-1-16-3 ⊕ qui ont un comportement semblable à celles du témoin F7N doivent être considérées comme résistantes.

Le tableau 3 donne les comparaisons entres les phénotypes observés pour la fertilité et pour la résistance (test n° 4) d'une plante-mère, et le niveau de résistance des mitochondries issues de 50 graines de sa descendance. La plante 170-5-3 ⊕ 3-6, classée résistante au champignon par le test sur feuille en survie (test n° 2) et partiellement sensible à la toxine (test n° 4), a des mitochondries de sensibilité intermédiaire.

TABLEAU 2

*Mesures des paramètres d'activité mitochondriale pour les descendances étudiées et les témoins F7T et F7N*

*a*) Coefficient de contrôle respiratoire (RC)
*b*) Coefficient de phosphorylation oxydative (ADP/O)
*c*) Coefficient de stimulation de l'oxydation du NADH par la toxine 1675.

| Descendances | 3 µl fractions injectées | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Témoin eau | | Toxine 1675 | | | Témoin méthanol | |
| | *a* | *b* | *a* | *c* | *b* | *a* | *b* |
| 170-5-3 ⊕ 3 fl . | 2,00 | 1,48 | 1,33 | × 1,06 | 1,36 | 1,72 | 1,15 |
| | 2,77 | 1,77 | 1,55 | | 1,21 | 2,24 | 1,32 |
| | 1,99 | 1,21 | 1,39 | | 0,99 | 2,16 | 1,32 |
| 170-3-3-8 fl ⊕ . | 2,73 | 1,01 | 1,11 | × 1,41 | 0,86 | | |
| | 1,90 | 0,95 | 1,00 | | 0 | non testé | |
| 170-3-3-3 ⊕ . . | 3,06 | 0,83 | 1,46 | × 1,08 | 0,86 | | |
| | 2,69 | 1,14 | 1,54 | | 0,88 | non testé | |
| | — | — | 1,56 | | 0,86 | | |
| F7 Texas . . . | 2,00 | 1,32 | | × 3,08 | | 1,95 | 1,25 |
| | 2,74 | 1,48 | 1,00 | | 0 | 2,54 | 1,25 |
| | 2,56 | 1,27 | | | | 2,44 | 1,19 |
| F7 Normal . . . | 2,00 | 1,27 | 1,90 | × 1 | 1,27 | 2,60 | 1,15 |
| | 2,56 | 1,56 | 2,45 | | 1,27 | 2,64 | 1,15 |
| | 2,59 | 1,48 | 2,55 | | 1,30 | 2,30 | 0,91 |
| 511-1-16-3 ⊕ . . | 2,74 | 1,02 | 2,46 | × 1 | 1,21 | 2,30 | 1,27 |
| | 2,97 | 1,02 | 2,89 | | 1,21 | 2,50 | 1,27 |
| | 3,66 | 1,06 | 3,29 | | 1,10 | 2,76 | 1,27 |

## 5. — *La fertilité mâle*

On doit s'attendre normalement à trouver parmi les plantes $M_3$ une certaine proportion (voisine de 25 p. 100) de mâle-stériles correspondant à l'absence de gène de restauration R*f*. On trouve effectivement des plantes mâle stériles dans la plupart des descendances, mais elles présentent des phénotypes très variés : panicules absentes ou très réduites, panicules de type « tassel-seed » ou présentant des dessèchements (avec anthères vides) partiels ou totaux; ou encore panicules d'apparence normale, mais ne libérant pas de pollen. L'observation au microscope après coloration, montre que tous les intermédiaires sont possibles entre l'absence totale de pollen et la production de pollen viable.

Il semble qu'on puisse classer tous ces phénotypes en deux groupes (fig. 1) :

*a*) un type mâle-stérile conforme au type Texas d'origine, caractérisé par un blocage de la gamétogenèse mâle au stade tétrade et la non production de pollen;

TABLEAU 3

*Comparaison des phénotypes des plantes-mères observés en serre et du niveau de résistance des mitochondries de leur descendance. L'évaluation est basée sur les données du tableau 2.*

| Plante mère | Phénotype en serre | | Mode d'obtention des descendances | Évaluation des mitochondries |
|---|---|---|---|---|
| | Fertilité | Résistance | | |
| 170-5-3-⊕-3-6 ..... | Fertile | Résistant | Fécondation libre | Intermédiaires |
| 170-3-3-⊕-8-1 ..... | Stérile | Sensible | Fécondation libre | Sensibles |
| 170-3-3--⊕-3 ..... | Fertile | Sensible intermédiaire | Autofécondation | Intermédiaires |
| F7 Texas ..... | Stérile | Sensible | × F7N | Sensibles |
| F7 Normal ..... | Fertile | Résistant | Autofécondation | Résistantes |
| 511-1-16-3 ...... | Fertile | Résistant | Autofécondation | Résistantes |

ces plantes ne donnent normalement que des descendants mâle-stériles par croisement avec la lignée F7N;

*b*) des types mâle-stériles modifiés, qui produisent généralement du pollen non viable en quantités variables. D'autres produisent du pollen partiellement viable mais ne manifestent pas d'anthèse. Les descendances de ces plantes obtenues par croisement avec F7N sont généralement mâle-fertiles. Cependant des types mâle-stériles modifiés peuvent réapparaître si l'on autoféconde ces descendances mâle-fertiles.

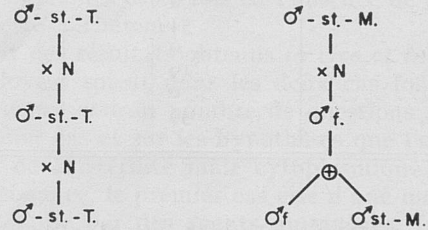



FIG. 1. — *Comportement des différents types de stérilité mâle trouvés dans les descendances du matériel traité. Le type ♂-st. -T. est conforme au type Texas d'origine : il ne produit pas de pollen et est maintenu par croisement avec la lignée F7N. Les types modifiés (♂-st. -M) produisent du pollen généralement non viable et ne sont pas maintenus par croisement avec la lignée F7N.* *♂f* : mâle fertile. *♂st* : mâle stérile ⊕ : autofécondation

### 6. — *La liaison résistance-fertilité mâle*

L'appréciation de ces deux caractères est rendue assez difficile du fait que : 1° les tests employés pour mesurer la résistance vis-à-vis d'*Helminthosporium maydis*, race T ne sont pas toujours concordants; 2° Les traitements mutagènes et les ségrégations qui interviennent normalement dans les $F_2$ et $F_3$ d'un croisement entraînent une variabilité importante dans les descendances. 3° La présence de

gènes de restauration peut masquer l'expression de la stérilité mâle cytoplasmique.

Néanmoins, l'observation des descendances nombreuses, provenant en particulier des croisements réciproques R (résistant) × F7N (♂) et F7T × R (♂), permettent d'affirmer que (tabl. 4) :

*a*) Les types mâle-stériles T se rencontrent très rarement dans les six familles résistantes sélectionnées après les tests au champ. On les trouve le plus souvent dans des familles ayant perdu la résistance notée au départ ou manifestant des types de résistance intermédiaire.

*b*) Il existe des plantes mâle-fertiles résistantes dont le génotype est *rf rf* et dont par conséquent la fertilité ne peut pas être attribuée à un gène de restauration.

*c*) Les hybrides F7T × résistants sont tous sensibles au champignon en condition de culture au champ, mais cette opinion serait peut être à nuancer dans le cas de certains d'entre eux et dans des conditions d'infection moins drastiques.

TABLEAU 4

*Exemples de descendances $M_5$ obtenues à partir de types résistants $M_4$ par autofécondation⊕, croisements par la lignée normale F7N ou sur la lignee F7T prise comme femelle.*

| Descendances | Mâle-stériles sensibles | Mâle-fertiles | |
|---|---|---|---|
| | | Sensibles | Résistants |
| 473-3-4-5 × F7N | 0 | 0 | 74 |
| F7T × 473-3-4-10 | 54 | 0 | 0 |
| 511-1-1-2-⊕ | 0 | 0 | 45 |
| F7T × 511-1-1-2 | 19 | 24 | 0 |
| 524-1-2-⊕ | 0 | 0 | 48 |
| F7T × 524-1-2 | 39 | 0 | 0 |

## Discussion et conclusion

Les résultats que nous avons obtenus *in vivo* après un traitement mutagène appliqué sur cellules embryonnaires et ceux obtenus *in vitro* par Gengenbach *et al.* (1977) en présence de filtrats de culture d'*Helminthosporium maydis* race T prouvent que l'on peut modifier les propriétés caractéristiques du cytoplasme Texas, à savoir la stérilité mâle et la sensibilité à *Helminthosporium maydis* race T. Dans les deux expériences cependant, l'obtention de plantes résistantes s'accompagne d'un retour à la fertilité mâle ou, en tous cas, d'une modification profonde de type de stérilité mâle originel. Il y a donc, sans aucun doute, une liaison très étroite entre les deux couples de caractères et il faudra analyser de nombreuses descendances pour espérer pouvoir rompre cette liaison.

Il ne semble pas non plus que soit intervenue une modification du génome nucléaire qui aurait pu être une restauration de la résistance au pathogène. Dans

les deux cas, les types de résistance obtenus ont une hérédité de type cytoplasmique non transmise par les gamètes mâles. Cependant, les résistances obtenues après traitement *in vivo*, paraissent moins uniformes que celles obtenues *in vitro* : entre les familles résistantes, il semble exister des différences de comportement tissulaires vis-à-vis du pathogène et des différences de comportement mitochondrial vis-à-vis de la toxine émise par le champignon.

L'analyse fine des lésions provoquées par le champignon ou par sa toxine devrait permettre de caractériser les différents types de résistance obtenus. Bien que sans intérêt pratique, les familles dans lesquelles des résistances observées au moyen des tests nº 1, 2, 3 et 4 n'ont pas été confirmées par le test nº 5 (phénotype intermédiaire) semblent constituer un matériel de choix pour l'étude de la liaison sensibilité — stérilité mâle. L'étude des mitochondries de ces familles révèle l'existence de niveaux de résistance intermédiaire et montre que dans une même famille peuvent exister des types intermédiaires différents. Ces observations associées à celles réalisées sur les plantes confirment bien qu'il peut y avoir ségrégation pour le caractère de résistance à l'intérieur d'une même famille.

La résistance intermédiaire des mitochondries peut s'expliquer de deux manières :

— les mitochondries sont homogènes et de résistance intermédiaire,
— les mitochondries sont hétérogènes, et la coexistence de mitochondries sensibles et résistantes se traduit par une résistance intermédiaire.

L'étude des mitochondries et les disjonctions sensibles-résistantes dans les générations ultérieures devraient permettre de choisir entre ces deux hypothèses.

L'existence de ségrégations résistants/sensibles et de comportement mitochondriaux de type intermédiaire, après traitements mutagènes *in vivo* peut permettre, par une sélection attentive, l'obtention de « recombinants » mâle-stériles résistants, avant la fixation définitive des caractères remaniés. De nouveaux traitements mutagènes appliqués cette fois en l'absence de gènes de restauration, pourraient favoriser cette recherche.

Si le rapprochement des résultats obtenus *in vivo* et *in vitro* s'impose, le fait que les méthodes employées soient dans les deux cas fondamentalement différentes, amène à se poser un certain nombre de questions sur le rôle des agents mutagènes dans le premier cas et sur les hypothèses que l'on peut faire à propos du support héréditaire de la stérilité mâle cytoplasmique.

C'est à notre connaissance, le premier cas cité d'une modification héréditaire d'une stérilité cytoplasmique par des agents mutagènes. Le mécanisme d'intervention nous est inconnu : deux hypothèses peuvent être proposées :

— mutations au niveau du support héréditaire concerné,
— modification des conditions d'équilibre entre deux génomes préalablement existants.

De toutes façons, il est surprenant qu'une modification induite au niveau d'un organite cytoplasmique ait pu survivre aussi longtemps et même se développer suffisamment à l'intérieur de la plante $M_1$, sans pression de sélection extérieure, pour finalement se retrouver dans une partie importante de la descendance : il faut admettre, soit que le nouveau génome a bénéficié d'un coefficient de sélection favorable, soit que la « modification » induite s'est produite très souvent.

Dans le cadre de l'hypothèse d'un support mitochondrial de la stérilité mâle cytoplasmique, on peut être amené à supposer, comme le font Gengenbach *et*

*al.* (1977), que le cytoplasme « Texas » est maintenu dans un état hétérogène caractérisé par un mélange de mitochondries T et de mitochondries N.

BELLIARD *et al.* (1977) ont récemment démontré qu'un état hétérogène de ce type, obtenu par fusion cytoplasmique de protoplastes issus d'un tabac mâle-stérile et d'un tabac à cytoplasme normal pouvait être stable et héréditaire. La stabilité du cytoplasme Texas pourrait donc être considérée comme un équilibre entre deux types de mitochondries. Dans le cas de l'expérience *in vitro* (GENGENBACH *et al.*, loc. cit.), cet équilibre a pu être modifié par la pression de sélection exercée par la toxine en faveur des mitochondries normales; dans le cas de notre expérience *in vivo*, cet argument ne pouvant être retenu, il conviendrait d'envisager la possibilité d'une action des agents mutagènes sur les facteurs de régulation de cet équilibre cytoplasmique.

*Reçu pour publication en janvier 1978.*

## Remerciements

Nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements à MM. A. CAUDERON, E. BILIOTTI, Y. DEMARLY, J. PONCHET et P. DOMMERGUES qui nous ont encouragé et soutenu dans notre entreprise.

Nos remerciements s'adressent également à MM. A. COTTE, S. RAUTOU, M. DERIEUX et M. POLLACSECK qui ont bien voulu mettre leurs moyens à notre disposition pour assurer les multiplications d'un important matériel.

## Summary

### *Inheritance and Heredity and characteristics of sources of resistance to* Helminthosporium maydis *race T obtained through mutagenesis on Texas male-sterile cytoplasm maize.*

In order to obtain plants from CmsT ones susceptible to *Helminthosporium maydis* race T (HmT), two kinds of mutagenesis were carried out on seeds of the French line F7T:

— exposure to $\gamma$ rays (15 000 R),

— soaking in a 2,5 g/l ethyl methyl sulfonate solution (EMS).

The plants from the treated seeds are called $M_1$ generation; crossed with a restorer line ($F_{71}$) it produces a male fertile progeny called $M_2$ giving $M_3$ by selfing. In order to screen for resistance to HmT, $M_3$ seedlings are checked either with the cultured filtrate medium or by direct inoculation of conidia. Tests reveal resistant plants from 42 $M_2$ progenies (6,7 p. 100) after EMS treatment and from only one $M_2$ progeny after $\gamma$ ray irradiation.

In all cases one $M_2$ plant carrying resistance trait appears to segregate resistant and susceptible plants in its $M_3$ progeny. This resistance trait appears to be transmitted in $M_4$ progenies for only 15 families.

In $M_5$, plants are grown in fields with climatic conditions favorable to the fungus. After this drastic screening only six families with a level of resistance equal or superior to normal cytoplasm line are surviving.

The inheritance of resistance/susceptibility and fertility/sterility traits through progenies of the treated seeds point to the following facts:

1. Two kinds of male sterility are obtained *a*) the Texas type corresponding to original type, characterized by pollen abortion and normally developped tassels; $F_7N$ maintains the male-sterile phenotype. *b*) a modified male-sterile type characterized by tassel abnormalities and non viable pollen grains; $F_7N$ does not maintain the male-sterile phenotype. In a whole resistant families the second type is more frequent than the first one.

2. The existence of male fertile plants bearing no restorer alleles. This fact suggests that reversion towards fertility is probably due to a cytoplasmic event. Moreover the reversed male fertile plants are always resistant to HmT.

3. Adequate crosses emphazise the resistant trait of six families screened in $M_5$, is not transmitted through pollen grain fertilization. Resistance trait is then supposed to be maternally inherited.

4. The behaviour of some plants after toxin inoculation or that of their isolated mitochondria with toxin suggests the existence of intermediary resistance levels.

The comparison between results obtained after *in vivo* mutagenesis treatment and GENGENBACH *et al.* (1977) ones after promoting plants from calli grown in the presence of toxin show that:

*a*) it is possible to change some characteristics of the Texas cytoplasm such as male-sterility and susceptibility to HmT;

*b*) both traits are closely related and have a tendency to reserve simultaneously.

## Références bibliographiques

ALEXANDER M. P., 1969. Differential staining of aborted and non-aborted pollen. *Stain Technol.*, **44** (3), 117-122.

ARNTZEN C. J., KOEPPE D. E., MILLER R. J., PEVERLY J. H., 1973. The effect of pathotoxin from *Herminthosporium maydis* race T on energy linked processus of corn seedlings. *Physiol. Plant Pathol.*, **3**, 79-90.

BEDNARSKI Mary Ann, IZAWA S. and SCHEFFER R. P., 1977. Reversible effects of toxins from *Helminthosporium maydis* (race T) on oxydative phosphorylation by mitochondria from maize. *Plant Physiol.*, **59**, 540-545.

BELLIARD Geneviève, PELLETIER G. et FERAULT Madina, 1977. Fusions de protoplastes de *Nicotiana tabacum* à cytoplasmes différents : Étude des hybrides cytoplasmiques néoformés. *C. R. Acad. Sci.*, Série D, Paris, **284**, 749-752.

BERVILLÉ A., GARNIER H., ARANDA G., FETIZON M., CASSINI R., POIRET B., CORNU A., VUILLAUME E., 1977. Altération of mitochondria in male sterile forms of plants. 7e *Congrès EUCARPIA, Madrid (Espagne)*, 23-25 *mai* 1977.

CASSINI R., 1971. *Helminthosporium maydis* race T et *Kabetiella zeae*, deux agents pathogènes du maïs nouveaux en France. *Bull. tech. Inf.* **264-265**, 1066-1072.

CASSINI R., BOUSQUET J. F., BERVILLÉ A., CORNU A., 1975. *Helminthosporium maydis* et stérilité mâle cytoplasmique chez le Maïs. *Ann. Phytopathol.*, **7** (3), 210.

CASSINI R., CORNU A., BERVILLE A., 1977. Étude préliminaire des sources de résistance à *Helminthosporium maydis* race T obtenues par mutagenèse chez des maïs à cytoplasme mâle stérile Texas. *EUCARPIA*, 9e *Congrès International de la Section Maïs-Sorgho*, Krasnodar (U.R.S.S.), 7-13 août 1977.

CONTRERAS (M. R.) et BOOTHROYD, 1975. Histological reactions and effects on position of epidermal nucleic in susceptible and resistant corn inoculated with *Helminthosporium maydis* race T. *Phytopathology*, **65**, 1075-1078.

CORNU A., CASSINI R., BERVILLÉ A., VUILLAUME E., 1977. Recherche par mutagenèse d'une résistance à *Helminthosporium maydis* race T chez le maïs à cytoplasme mâle stérile Texas. In *Induced mutations against plant diseases*, I.A.E.A., Vienne, 479-488.

GENGENBACH B. G., MILLER R. J., KOEPPE D. E., ARNTZEN C. J., 1973. The effect of toxins from *Helminthosporium maydis* (race T) on isolated corn mitochondria: swelling. *Can J. Bot.*, **51**, 2119-2125.

GENGENBACH B. G. et GREEN C. E., 1975. Selection of T cytoplasm maize callus culture resistant to *Helminthosporium maydis* race T pathotoxin. *Crop Sci.*, **15**, 645-649.

GENGENBACH B. G., GREEN C. E. et DONOVAN C. M., 1977. Inheritance of selected pathotoxin resistance in maize plants regenerated from cell cultures. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, **74** (11), 5113-5117.

GRACEN V. E., FORSTER M. J. et GROGAN C. O., 1974. Reactions of corn genotypes and cytoplasms to *Helminthosporium maydis* toxin. *Plant Dis. Rep.*, **55**, 938-941.

GREEN C. E., PHILIPS R. L., et KLEESE R. A., 1974. Tissue cultures of maize (*Zea mays* L.): Initiation, maintenance and organic growth factors. *Crop Sci.*, **14**, 54-58.

HILTY J. W. et JOSEPHSON L. M., 1971. Reactions of corn inbreds with different cytoplasms to *Helminthosporium maydis*. *Plant Dis. Rep.*, **55**, 195-198.

HOOKER A. L., SMITH D. R., LIM S. M. and BECKETT J. B., 1970. Reaction of corn seedling with male-sterile cytoplasm to *Helminthosporium maydis*. *Plant. Dis. Rep.*, **54**, 708-712.

JOHNSON G. A., 1976. Analysis of nuclear genetic resistance in maize to race T southern corn leaf blight. *Crop Sci.*, **16**, 340-343.
KARR A. L., KARR Dale B. and STROBEL G. A., 1974. Isolation and partial characterization of four host-specific toxins of *Helminthosporium maydis* (race T). *Plant. Physiol.*, **53**, 250-257.
KARR Dale B., KARR A. L. and STROBEL G. A., 1975. The toxins of *Helminthosporium maydis* (race T). *Plant. Physiol.*, **55**, 727-730.
LIM S. M., 1975. Diallel analysis for reactions of eight corn inbreds to *Helminthosporium maydis*, race T. *Physiopathology*, **65**, 10-15.
LIM S. M. et HOOKER A. L., 1972. Preliminary characterization of *H. maydis* toxins. *Plant Dis. Rep.*, **56**, 805-807.
MERCADO A. C. et LANTICAN R. M., 1961. The susceptibility of cytoplasmic male sterile lines of corn to *Helminthosporium maydis* Nisikado and Miyake, *Philipp. Agric.*, **45**, 235-243.
MILLER R. J. et KOEPPE D. E., 1971. Southern corn leaf blight: susceptible and resistant mitochondria. *Science*, **173**, 67-69.
SCOTT G. G. et FUTRELL M. C., 1975. Reaction of diallel crosses of maize in T and N cytoplasms to *Bipolaris Maydis*, race T. *Crop Sci.*, **15**, 779-782.
SMITH D. R., HOOKER A. L., LIM S. M., 1970. Physiological races of *Helminthosporium maydis*. *Plant. Dis. Rep.*, **54**, 819-822.
SMITH D. R., HOOKER A. L., LIM S. M. et BECKETT J. B., 1971. Disease reaction of 30 sources of cytoplasmic male sterile corn to *Helminthosporium* race T. *Crop Sci.*, **11**, 772-773.
ULLSTRUP A. J., 1970. History of southern corn leaf blight. *Plant Dis. Rep.*, **54**, 1100-1101.
VILLAREAL R. L. et LANTICAN R. M., The cytoplasmic inheritance of susceptibility to *Helminthosporium* leaf spot in corn. *Philipp. Agric.*, **49**, 294-300.
WATRUD L. S., BALDWIN J. K., MILLER R. J., KOEPPE D. E., 1975. Induction of a sensitive response to *Helminthosporium maydis* race T toxin in resistant mitochondria of corn by removal the outer mitochondrial membrane. *Plant Physiol.*, **56**, 216-221.
WATRUD L. S., HOOKER A. L. et KOEPPE D. E., 1975. The effects of nuclear restorer genes of Texas male-sterile cytoplasm on host response to *Helminthosporium maydis* race T. *Phytopathology*, **65**, 178-182.
WHEELER J. E., MC DANIEL R. G. et HINE R. B., 1972. Specificity of the toxin(s) from *Helminthosporium maydis* race T to mitochondria from various plant cytoplasms. *Phytopathology*, **62** (7), 798 (abstract).
WHITE J. A., CALVERT O. H. et BROWN M. F., 1973. Ultrastructural changes in corn leaves after inoculation with *Helminthosporium maydis*, race T. *Phytopathology*, **63**, 296-300.

# TABLE DES MATIÈRES DE L'ANNÉE 1977

M. Bernard, J.-C. Autran et P. Joudrier. — Possibilités d'identification de certains chromosomes de seigle à l'aide de marqueurs biochimiques . . . . . . . . . . . 355
M. Bernard, Bernadette Saigne. — Étude cytogénétique de $F_1$ et $F_2$ (Triticale hexaploïde × Seigle). Mise en évidence d'une inhibition du système diploïdisant du Blé tendre . 737
Sylvie Bernard. — Étude de quelques facteurs contribuant à la réussite de l'audrogénèse par culture d'anthères *in vitro* chez le Triticale hexaploïde . . . . . . . . . 639
A. Bouquet. — Amélioration génétique de la Vigne : essai de définition d'un schéma de sélection applicable à la création de nouvelles variétés . . . . . . . . . . 75
A. Boyat, P. Robin. — Relations entre productivité, qualité du grain et activité nitrate réductase chez les céréales . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 389
R. Cassini, A. Cornu, A. Bervillé, Élisabeth Vuillaume et A. Panouillé. — Hérédité et caractéristiques des sources de résistance à *Helminthosporium maydis* race T, obtenues par mutagenèse chez des maïs à cytoplasme mâle-stérile Texas . . . . . 753
Maria-Cristina Chueca, Yvonne Cauderon. — Induction d'appariements homéologues entre les chromosomes du Blé tendre et un télosome d'*Agropyron intermedium* par croisement avec des *Aegilops*. . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 135
Maria-Cristina Chueca, Yvonne Cauderon, J. Tempé. — Technique d'obtention d'hybrides blé tendre × *Aegilops* par culture *in vitro* d'embryons immatures . . . . . . . 539
A. Coudret, Françoise Ferron. — La transpiration végétale. Modes d'action des anti-transpirants. . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 613
P. Crossa Raynaud. — L'acclimatation des variétés fruitières. . . . . . . . . . . 497
L. Degras, R. Arnolin, A. Poitout, C. Suard. — Quelques aspects de la biologie des ignames (*Dioscorea* sp. p.); I. — Les ignames et leur culture . . . . . . . . . 1
A. Deshayes, R. Bruneau. — Initiation de cals et néoformation de bourgeons chez *Echinochloa crus galli* (L.) P.B. . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 427
Jacqueline Doat, R. Marie. — Analyse d'un mutant à tige cassante radio-induit chez le Riz, *Oryza sativa* L. . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 705
J.-P. Doazan, Hélène Bellegarde. — Essai de transmission par la graine de viroses de la Vigne (Court-noué, Marbrure) . . . . . . . . . . . . . . . . . . 245
H. S. Easton. — Étude comparative d'effets génétiques chez des plantes diploïdes et tétraploïdes isogéniques de *Festuca pratensis* Huds . . . . . . . . . . . 129
H. S. Easton. — A comparative study of genetic effects in isogenic diploid and tetraploid plants of *Festuca pratensis* HUDS. I. — Introduction, methodology and mean character differences (Étude comparative d'effets génétiques chez des plantes diploïdes et tétraploïdes isogéniques de *Festuca pratensis* HUDS. I. — Introduction méthodologie et différences moyennes des caractères) . . . . . . . . . . . . . . . . . 563
J.-M. Favre. — Premiers résultats concernant l'obtention *in vitro* de néoformations caulinaires chez la Vigne . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 151
C. Foury. — Essai d'application d'acide gibbérellique $GA_3$ sur une culture d'artichaut de printemps (*Cynara scolymus* L.) cultivar « Blanc Hyérois ») . . . . . . . 411
C. Foury, Brigitte Cadilhac, S. Aubert. — Observations sur les teneurs en chlorophylle et en cynarine, et sur la structure des chloroplastes d'un mutant d'artichaut (*Cynara scolymus* L.) à feuilles jaunes . . . . . . . . . . . . . . . . . 587
C. Foury, S. Aubert. — Observations préliminaires sur la présence et la répartition de pigments anthocyaniques dans un mutant d'artichaut (*Cynara scolymus* L.) à fleurs blanches . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 603
A. Gallais. — Amélioration des populations, méthodes de sélection et création de variétés. I. — Synthèse sur les problèmes généraux et sur les bases théoriques pour la sélection récurrente intra-population . . . . . . . . . . . . . . . . . 281

A. GALLAIS. — Amélioration de l'efficacité des schémas de sélection récurrente . . . 477
J. GASQUEZ, J.-P. COMPOINT. — Mise en évidence de la variabilité génétique infrapopulation par l'utilisation d'isoenzymes foliaires chez *Echinochloa crus galli* (L.) P.B. . . . . 267
M. GILLET et L. HUGUET. — Bilan de la première variété de Fétuque élevée du Catalogue, sélectionnée pour la valeur alimentaire . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 331
P. JOUDRIER, M. BERNARD. — Responsabilité du génome D sur certaines isozymes β-amylase du grain de blé tendre . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 35
M. JULLIEN, Luisa ROSSINI. — L'obtention de cellules séparées à partir du tissu foliaire chez les plantes supérieures : intérêt et potentialités d'une méthode mécanique . . . . 87
F. KAAN, H. LATERROT. — Mise en évidence de la relation entre des résistances de la Tomate à deux maladies vasculaires : le Flétrissement bactérien (*Pseudomonas solanacearum* E.F. SM) et la Fusariose pathotype 2 (*Fusarium oxysporum f.* sp. *lycopersici* (SACC.) SNYD. et HANS) . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 25
G. KLEIJER, Z. FOSSATI .— Analysis of some quantitative characters using the monosomic series of the common Wheat variety « Probus ». (Analyse de plusieurs caractères quantitatifs de la série monosomique de la variété de Blé tendre « Probus ») . . . . . . 729
B. LANTIN. — Estimation des besoins en froid nécessaires à la levée de dormance des bourgeons du Cassis (*Ribes nigrum*) et du Groseillier à grappes (*Ribes* sp.) . . . . . . . . . 435
P. LECLERCQ. — Compétition intervariétale chez le Tournesol . . . . . . . . . . . 105
G. LEFORT. — Remarques sur la modélisation et l'interprétation des dispositifs diallèles 171
J. LEMOINE. — Détermination des virus latents conditionnant l'incompatibilité au greffage de la variété de pommier « Charden » . . . . . . . . . . . . . . . . . 577
M. LE NARD. — L'amélioration de la Tulipe pour l'aptitude au forçage. Recherche de critères de sélection . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 451
M. LILA. — Technique de mesure de la digestibilité *in vitro* en grande série en vue de la sélection pour la qualité des plantes fourragères . . . . . . . . . . . . . . 117
M. LILA. — Influence des modalités de séchage sur la mesure de la teneur des fourrages en élément azotés et glucidiques. Conséquences lors des récoltes d'essais en champs . . 465
J.-P. MAÎTRE. — Aptitude à la vie en association chez le Trèfle violet . . . . . . . 369
R. MONET. — Amélioration du Pêcher par la voie sexuée; exposé d'une méthode . . 223
R. MONET, Y. BASTARD. — Résistance au gel et évolution physiologique des bourgeons floraux du Pêcher . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 717
R. MONET, Y. BASTARD. — Mutation induisant une adhérence des cotylédons de la graine chez le Pêcher . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 749
E. PICARD, J. DE BUYSER. — High production of embryoids in anther culture of pollen derived homozygous spring wheats (Obtention de hautes fréquences d'embryoïdes à partir de cultures *in vitro* d'anthères d'haploïdes doublés de Blé tendre) . . . . . . 483
M. PITRAT, Georgette RISSER. — Étude de la sensibilité variétale du Fraisier à *Phytophthora cactorum* après contamination provoquée . . . . . . . . . . . . . . . . 49
E. POCHARD. — Localization of genes in *Capsicum annuum* L. by trisomic analysis (Localisation de gènes chez *Capsicum annuum* L. par analyse trisomique) . . . . . . 255
Georgette RISSER, M. PITRAT, J. C. RODE. — Étude de la résistance du Melon (*Cucumis melo* L.) au Virus de la Mosaïque du Concombre . . . . . . . . . . . . . . . 509
M. RIVES. — Réflexions pour une stratégie de l'amélioration de la Vigne . . . . . . 61
M. RIVES and E. PICARD. — A case of genetic assimilation: selection through androgenesis or parthenogenesis of haploid producing systems (an hypothesis) (Un cas d'assimilation génétique : sélection par androgenèse ou parthénogenèse de systèmes produisant plus d'haploïdes (hypothèse)) . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 489
P. ROTILI and L. ZANNONE. — Quantitative analysis of fertility in Lucerne at different levels of selfing (Analyse quantitative de la fertilité de la Luzerne à divers niveaux d'inbreeding) 341
G. SALESSES. — Recherches sur l'origine de deux pruniers porte-greffes hybrides interspécifiques naturels : un exemple d'étude cytologique développée pour la création de porte-greffes nouveaux chez les pruniers . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 235
G. SALESSES, A. MOURAS. — Tentative d'utilisation des protoplastes pour l'étude des chromosomes chez les *Prunus* . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 363
H. THIELLEMENT. — La stérilité mâle cytoplasmique chez *Vicia faba* L. I. — Historique et hypothèses . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 203
H. THIELLEMENT. — La stérilité mâle cytoplasmique chez *Vicia faba* L. II. — Hétérogénéité phénotypique d'une lignée mâle-stérile . . . . . . . . . . . . . . . . . 547
H. THIELLEMENT. — La stérilité mâle cytoplasmique chez *Vicia faba* L. III. — Hérédité des phénotypes polliniques . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 555

Felicity VEAR, J.-J. GUILLAUMIN. — Étude de méthodes d'inoculation du Tournesol par *Sclerotinia sclerotiorum* et application à la sélection . . . . . . . . . . . . . . . . 523
P. VINCOURT. — Aspects statistiques de la qualité d'un plan d'expérience. I. — Le choix d'une expérience . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 211
P. VINCOURT, A. GALLAIS, J. C. BERTHOLLEAU. — Étude expérimentale de l'évolution de la vigueur de variétés synthétiques au cours de générations de multiplication. I. — But et description. II. — Évolution de variétés synthétiques chez le Dactyle (*Dactylis glomerata* L.) . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 675
Élisabeth VUILLAUME, A. DESHAYES. — Initiation de cals *in vitro* à partir de fragments de mésocotyle et de coléoptile chez le Maïs . . . . . . . . . . . . . . . . . 657

## CONTENTS

M. BERNARD, J.-C. AUTRAN, P. JOUDRIER. — Use of biochemicals markes to identify Rye chromosomes . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 355
Sylvie BERNARD. — Study of some factors controlling *in vitro* androgenesis of hexaploid Triticale . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 639
M. BERNARD, Bernadette SAIGNE. — Cytological study of $F_1$ and $F_2$ (hexaploid triticale × rye): evidence for an inhibition of the diploidizing system in wheat . . . . . 737
A. BOUQUET. — Genetic improvement of Grape : definition of a breeding plan applicable to the selection of new cultivars . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 75
A. BOYAT, P. ROBIN. — Relationships between productivity, quality of the grain and nitrate reductase activity in the cereals . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 380
R. CASSINI, A. CORNU, A. BERVILLÉ, Élisabeth VUILLAUME et A. PANOUILLÉ. — Heredity and characteristics of sources of resistance to *Helminthosporium maydis* (race T), obtained through mutagenesis on male-sterile Corn with Texas cytoplasm . . . . . 753
Maria-Cristina CHUECA, Yvonne CAUDERON. — The pairing of an alien *Agropyron* telosome with Wheat chromosomes by homoeologous pairing using *Aegilops* . . . . . . . 135
Maria-Cristina CHUECA, Yvonne CAUDERON, J. TEMPÉ. — *In vitro* embryo culture technique to obtain (*Triticum aestivum* × *Aegilops speltoides*) hybrids. . . . . . . . . 539
A. COUDRET, Françoise FERRON. — Modes of intervention in plant transpiration : Effect of antitranspirants . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 613
P. CROSSA RAYNAUD. — Fruit varieties acclimatation . . . . . . . . . . . . . . . 497
L. DEGRAS, R. ARNOLIN, A. POITOUT, C. SUARD. — Some aspects of the biology of yams (*Dioscorea* sp. p.). I. — The yams and their cultivation . . . . . . . . . . . 1
A DESHAYES, R. BRUNEAU. — Callus initiation and bud neoformation in *Echinochloa crus galli* (L.) P.B. . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 427
Jacqueline DOAT, R. MARIE. — Analysis of a Brittle-Culm mutant of rice (*Oryza sativa* L.) induced by gamma rays . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 705
J.-P. DOAZAN, Hélène BELLEGARDE. — Attempt at seed transmission of two virus diseases of the Grapevine (Court-noué and Marbrure) . . . . . . . . . . . . . . . . . 245
H. S. EASTON. — Comparative study of genetic effects in diploid and tetraploid isogenic plants of *Festuca pratensis* HUDS . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 129
H. S. EASTON. — A comparative study of genetic effects in isogenic diploid and tetraploid plants of *Festuca pratensis* HUDS. I. — Introduction, methodology and mean character differences . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 563
J.-M. FAVRE. — First results on *in vitro* production of bud-neoformations in Grapevine 151
C. FOURY. — Effect of gibberellins sprays on a spring crop of artichoke cv. « Blanc Hyérois » . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 411
C. FOURY, Brigitte CADILHAC, S. AUBERT. — Chlorophyll and cinarin contents, and plast structure in a yellowish leaved mutant in globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) . . . . 587
C. FOURY, S. AUBERT. — Some observations on anthocyan contents of a white flowered mutant in globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) . . . . . . . . . . . . . . . 603
A. GALLAIS. — Population improvement, breeding methods and creation of varieties. I. — Synthesis on general aspects and on theoretical bases for recurrent selection within population . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 281

A. GALLAIS. — Improvement of efficiency of recurrent selection methods . . . . . 477
J. GASQUEZ, J.-P. COMPOINT. — Demonstration of the infrapopulation genetic variability through the use of foliar isoenzymes in *Echinochloa crus galli* . . . . . . . . . . 267
M. GILLET, L. HUGUET. — Evaluation of the first tall Fescue cultivar registred on the French List, selected for feeding value . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 331
P. JOUDRIER, M. BERNARD. — Responsability of the D genome on some β-amylase isozymes in the wheat grain . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 35
M. JULLIEN, L. ROSSINI. — Isolation of mesophyll cells from higher plant leaves: advantages and potentialities of a mechanical method . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 87
F. KAAN, H. LATERROT. — Evidence of the relationship between two plurifactorially inherited resistances of Tomato to *Fusarium* and *Pseudomonas* vascular diseases . . . . . 25
G. KLEIJER, A. FOSSATI. — Analysis of some quantitative characters using the monosomic series of the common Wheat variety « Probus » . . . . . . . . . . . . . . . . 729
B. LANTIN. — *Ribes* cold requirements for bud bursting . . . . . . . . . . . . . . 435
P. LECLERCQ. — Intervarietal competition in Sunflower . . . . . . . . . . . . . . 105
G. LEFORT. — Remarks on modelisation and analysis of diallel designs . . . . . . . 171
J. LEMOINE. — Graft incompatibility with the apple cultivar Charden, induced by stem pitting virus . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 577
M. LE NARD. — Tulip breeding for forcing ability. Research of *criteria* for selection . . . 451
M. LILA. — Technique for measuring *in vitro* digestibility in large series for breeding for quality in forage plants . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 117
M. LILA. — Influence of drying conditions on evaluation of soluble nitrogen and soluble carbohydrate content of forages. Consequences for trial harvesting . . . . . . . . 465
J.-P. MAÎTRE. — Associative ability among red clover genotypes . . . . . . . . . . 369
R. MONET. — Peach breeding. — Account of a method . . . . . . . . . . . . . . . 223
R. MONET, Y. BASTARD. — Cold hardiness and physiological evolution of peach flower buds 717
R. MONET, Y. BASTARD. — A new mutation inducing cotyledon adherency on peach seeds . 749
E. PICARD, J. DE BUYSER. — High production of embryoids in anther culture of pollen derived homozygous spring wheats . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 483
M. PITRAT, Georgette RISSER. — Susceptibility of Strawberry to *Phytophthora cactorum* in artificial inoculation . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 49
E. POCHARD. — Localization of genes in *Capsicum annuum* L. by trisomic analysis . 255
Georgette RISSER, M. PITRAT, J.-C. RODE. — Resistance of Melon (*Cucumis melo* L.) to Cucumber Mosaic Virus . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 509
M. RIVES. — A strategy for Grapevine breeding . . . . . . . . . . . . . . . . . . 61
M. RIVES, E. PICARD. — A case of genetic assimilation: selection through androgenesis or parthenogenesis of haploid producing systems (an hypothesis) . . . . . . . . . . 489
P. ROTILI, L. ZANNONE. — Quantitative analysis of fertility in Lucerne at different levels of selfing . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 341
G. SALESSES. — Researches about the origin of two *Prunus* root-stocks, natural interspecific hybrids: an illustration of a cytological study carried out in order to create new *Prunus* root-stocks . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 235
G. SALESSES, A. MOURAS. — The use of protoplasts for *Prunus* chromosomes study . . . . 363
H. THIELLEMENT. — Cytoplasmic male-sterility in *Vicia faba* L. I. — Historical and hypothetical aspects . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 203
H. THIELLEMENT. — Cytoplasmic male-sterility in *Vicia faba* L. II. — Phenotypic heterogeneity of a male-sterile line . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 547
H. THIELLEMENT. — Cytoplasmic male-sterility in *Vicia faba* L. III. — Heredity of different phenotypes . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 555
Felicity VEAR, J. J. GUILLAUMIN. — Study of methods of inoculating sunflowers with *Sclerotinia sclerotiorum* and their application to breeding . . . . . . . . . . . . 523
P. VINCOURT. — Statistical aspects of the quality of an experimental design I. — Choice of an experiment . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 211
P. VINCOURT, A. GALLAIS, J. C. BERTHOLLEAU. — Experimental study of vigour of synthetic varieties in advanced generations. I. — Methods. II. — Results obtained on Cocksfoot 675
Elisabeth VUILLAUME, A. DESHAYES. — Initiation of callus formation on mesocotyl and coleoptile segments of Maize . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . . 657

# RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 29,7, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles *séparées* seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

*Au début de chaque mémoire*, on indiquera : — *le titre du mémoire;* il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes); — *le nom des auteurs*, précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de...; *le nom de l'établissement*, dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

*Les mémoires* seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :
a) *résumé* (250 mots max.) suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine; c) *techeique expérimentales et matériels utilisés*, en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences; d) *résultats*, à présenter de la manière la plus brève possible; e) *discussion* et *conclusion ;* f) *titre et résumé* en anglais ou destiné à être traduit en anglais comportant une analyse *complète* de l'article; g) *remerciements* pour les collaborations, les fonds, les dons...; h) *références bibliographiques*.

*Les travaux originaux en anglais* doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français *très complet*. Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

*Pour les autres documents* (notes, mises au point, revues, rapports, etc.), l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

*Les références bibliographiques* doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (DUPONT et DUVAL, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier sera mentionné, suivi de *et al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

*Pour les articles :* le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivi (s) des initiales du (des) prénom (s); la date de parution de l'article; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues mentionnées) : le titre du périodique en abrégé, selon la *World List of Scientific Periodicals*, ou le *Bulletin Signalétique du C.N.R.S. ;* le volume, la première et la dernière page de l'article.

*Pour les ouvrages :* le nom de l'auteur avec les initiales du prénom; la date de l'édition; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine); le volume; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs; le nom de l'éditeur; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d' « Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

*Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part.* Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

*Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils* seront envoyés soit *à l'état définitif* soit *à l'état de projets*, leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I.N.R.A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : *soit* × 0,5, *soit* × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des *Annales* est : 12,5 × 19 cm; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

*Photographies :* Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos : 9 × 12; 4 photos : 9 × 5,5; 6 photos : 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Il est demandé d'indiquer sur le manuscrit, dans la marge, en regard du texte, l'emplacement souhaité des tableaux et figures.

*Envoi du manuscrit :* M. RIVES, I.N.R.A., 11, rue Jean-Nicot 75007 Paris, France. On demande trois exemplaires.

*Correction des épreuves :* les épreuves que les auteurs recevront à corriger sont à retourner, après correction à Mme MANDON, Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes, C.N.R.A., 78000 Versailles.

*Le Directeur de la publication :* M.-L. Cagnac

F.D. Imprimerie Alençonnaise, rue Édouard-Belin, 61002 Alençon

*Dépôt légal : 4e trimestre 1977. No d'impression : 89.923*

CPPAP no 26633